

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI GENOVA



**Scuola di Scienze Mediche e Farmaceutiche
Corso di Laurea in Medicina e Chirurgia**

***L'IMPATTO DELLA MIASTENIA GRAVIS CON FOCUS SULLE
FORME REFRATTARIE, ALLA LUCE DELLE NUOVE POSSIBILITA'
TERAPEUTICHE: UNO STUDIO MONOCENTRICO***

Relatore Ch.ma Prof.ssa Marina Grandis

Correlatore Dott.ssa Elena Scarsi

Candidata

Chiara Maria Limonta

4558260

Anno accademico 2022/2023

Sommario

Introduzione

1.	La Miastenia Gravis	4
1.1	Epidemiologia	5
1.2	Eziologia	6
1.3	Fisiopatologia	6
1.3.1	Ruolo del timo	9
1.4	Clinica e classificazione	10
1.4.1	Minime manifestazioni cliniche	15
1.5	Diagnosi	16
1.5.1	Valutazione clinica	16
1.5.2	Test sierologici	18
1.5.3	Elettrofisiologia	19
1.5.4	Esami radiologici	20
1.6	Terapia	20
1.6.1	Terapia farmacologica sintomatica	21
1.6.2	Terapia farmacologica cronica immunomodulante/immunosoppressiva	21
1.6.3	Terapie parenterali	24
1.6.4	Timectomia	25
1.6.5	Trattamento della crisi miastenica	27
2.	Le forme di Miastenia Gravis refrattarie al trattamento	27
2.1	Definizione di Miastenia Gravis refrattaria al trattamento	27
2.2	Clinica associata alla Miastenia Gravis refrattaria	28
2.3	Terapie emergenti	29

Contributo sperimentale

3.	Background e obiettivi della tesi	32
4.	Materiali e metodi	33
5.	Risultati	35
6.	La nostra esperienza	48
7.	Discussione	51
8.	Conclusioni	57
9.	Bibliografia	58
10.	Ringraziamenti	62

Introduzione

1. Miastenia Gravis

La Miastenia Gravis (MG) è una patologia autoimmune neuromuscolare caratterizzata da debolezza muscolare e affaticabilità (Cavalcante et al., 2013)¹.

Questa patologia è causata dalla presenza di una risposta autoimmune rappresentata, nella maggior parte dei pazienti da autoanticorpi diretti contro il recettore post-sinaptico dell'acetil-colina con conseguente impatto sulla trasmissione neuromuscolare.

I primi casi documentati di Miastenia Gravis sono stati descritti già nel XVII secolo, ma solamente nei primi anni del '900 si sono ottenuti i primi risultati grazie al trattamento farmacologico con inibitori dell'acetil-colinesterasi e chirurgico, mediante timectomia.

Il fatto che la patologia abbia un'eziologia autoimmune è stato ipotizzato già negli anni '60 del secolo scorso sulla base di alcuni indicatori: analisi del siero, osservazione dei sintomi, implicazione del timo comune a molti pazienti, transitorietà della sintomatologia su neonati figli di madri miasteniche e associazione con altri disturbi autoimmuni (Conti-Fine et al., 2006)².

Tale ipotesi è ad oggi confermata da numerosi studi che hanno scoperto l'esistenza di anticorpi contro recettori della giunzione neuromuscolare.

La MG è una patologia rara, che richiede una presa in carico multidisciplinare; la disponibilità di numerose linee terapeutiche, anche di nuovissima generazione, ha migliorato la prognosi in un buon numero di pazienti; questo rende ancora più importante una diagnosi e un trattamento precoce.

Resta comunque una percentuale non trascurabile di pazienti con quadri clinici difficilmente controllati dalla terapia, che rappresentano, ancora oggi, una sfida terapeutica.

1.1 Epidemiologia

La Miastenia Gravis è una malattia rara, con una prevalenza di circa 10-30/100.000 e un'incidenza di 3/100.000/anno (Dresser et al., 2021)³.

La MG è una malattia che generalmente colpisce le donne giovani e uomini in età avanzata, avendo infatti una distribuzione bimodale con due picchi d'incidenza: 20-30 anni per le donne e >60 anni per gli uomini. Da studi epidemiologici recenti si è evidenziato inoltre un progressivo aumento dell'incidenza di MG in pazienti di età avanzata indipendentemente dal sesso.

In base all'età di esordio possiamo definire forme di miastenia early onset (<40 anni), late onset (LOMG) (>50 anni) e very late onset (VLOMG) (>65 anni).

Per quanto riguarda la forma “*late onset*” ad oggi non esiste definizione univoca ma esistono diversi cutoff, principalmente in base alla gaussiana di distribuzione della popolazione in esame (Oliveira et al., 2020)⁴.

Si parla invece di “*early onset*” per le forme con esordio al di sotto dei 40 anni di età (con un rapporto femmine: maschi di 7:3).

Dal punto di vista sierologico, vi è una prevalenza delle forme con Ab anti-MUSK in pazienti di origine africana o nelle zone periequatoriali di Europa e Asia, dato che presuppone una probabile compartecipazione di fattori genetici e ambientali.

Negli ultimi anni si è evidenziata un aumento dell'incidenza, dovuto probabilmente al miglioramento delle tecniche diagnostiche; pur in mancanza ad oggi di un registro standardizzato che lo certifichi, la disponibilità di terapie efficaci che hanno aumentato l'aspettativa di vita di questi pazienti ha aumentato anche la prevalenza della malattia.

1.2 Eziologia

La MG è una patologia autoimmune, ad eziologia non ancora completamente conosciuta, che riconosce come *primum movens* un'interazione tra fattori genetici e ambientali.

I geni che sono stati identificati come potenzialmente predisponenti la MG sono numerosi e tra questi abbiamo quelli associati ad una generica predisposizione all'autoimmunità, come *TNF*, *IFN- γ* , *IL-1 β* , *IL-10*, mentre ve ne sono altri associati in modo più specifico alla MG: *HLADRB1*1501*, *HLADQ5* e alcuni polimorfismi di *CTLA4*.

Così come anche in altre patologie autoimmuni si ipotizza una correlazione con fattori ormonali, in particolare gli estrogeni: questo spiegherebbe la maggiore prevalenza di questa malattia in donne giovani, così come per altre malattie immunomediate e anche la frequente slantetizzazione in periodi quali la gravidanza o il puerperio.

1.3 Fisiopatologia

La Miastenia Gravis è il prototipo della malattia autoimmune anticorpo-mediata. Alla base del processo fisiopatologico c'è infatti la presenza di autoanticorpi patogenetici che vanno ad agire contro epitopi espressi dalla porzione post-sinaptica della giunzione neuromuscolare, sito di trasmissione dell'impulso tra la fibra nervosa e quella muscolare. L'attacco anticorpo-mediato alla membrana causa un difetto nella trasmissione dell'impulso a questo livello e il manifestarsi della faticabilità muscolare (Berrih-Aknin et al., 2014)⁵.

A conferma di ciò esistono numerosi esperimenti in cui si è evidenziato che, rimuovendo nei pazienti miastenici gli anticorpi in circolo, si determina un rapido miglioramento della sintomatologia. Allo stesso modo iniettando in animali IgG da pazienti affetti da MG, si ottenevano le manifestazioni cliniche tipiche della malattia.

Infine si evidenzia l'associazione con svariati agenti infettivi alla cui base si presuppone ci sia un'anomala risposta timica all'infezione a tipo mimetismo molecolare (Gilhus et al., 2019)⁶.

Tra gli agenti infettivi che concorrono alla possibile patogenesi della MG è presente il virus Epstein Barr (EBV). Infatti si ritiene che un'infezione timica cronica sia essenziale, nel contesto di un background geneticamente predisponente, alla creazione dei meccanismi che contribuiscono all'autoimmunità alla base della MG. La presenza di una persistente infezione da EBV sembrerebbe essere responsabile di tale infiammazione e della successiva sensibilizzazione verso autoantigeni: nel timo infiammato, l'EBV promuoverebbe l'espansione di cloni autoreattivi delle cellule B (Cavalcante, Mantegazza et al., 2011)⁷.

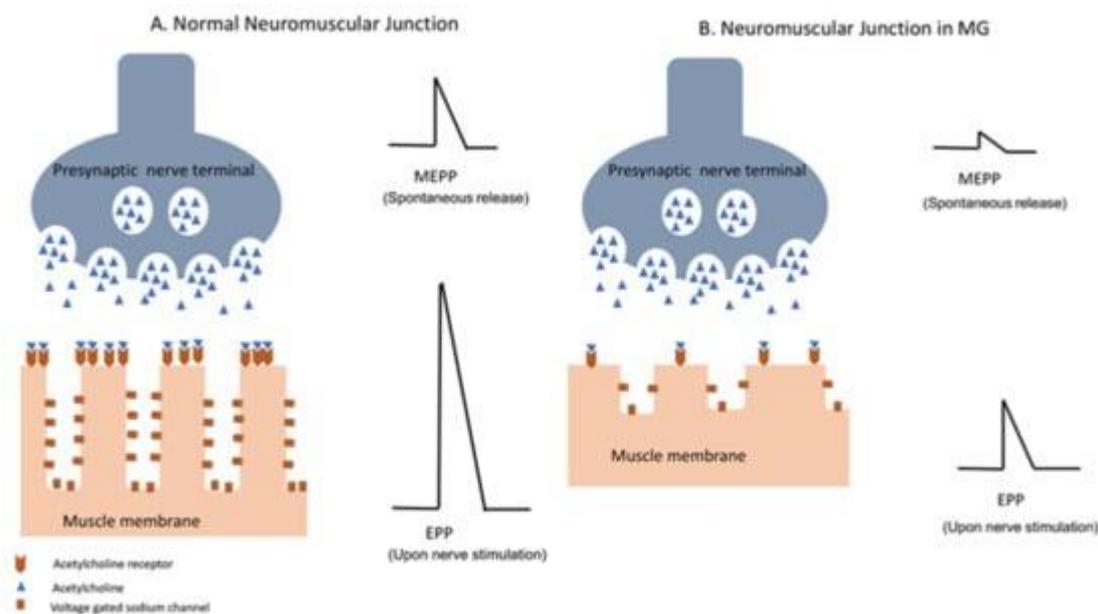


FIGURA N.1

In figura **A**) è rappresentata la trasmissione neuromuscolare in individui normale e **B**) in pazienti miastenici. Una minore densità dei recettori dell'acetilcolina e il danno complemento-mediato a livello della membrana postsinaptica determina una riduzione del potenziale di placca in miniatura (MEPP) così come il potenziale di placca terminale (EPP) in risposta al potenziale d'azione nervosa della membrana presinaptica. La diminuzione dell'ampiezza dell'EPP provoca una trasmissione neuromuscolare compressa nei pazienti con MG.

Da: Dresser, L.; Wlodarski, R.; Rezanian, K.; Soliven, B. Myasthenia Gravis: Epidemiology, Pathophysiology and Clinical Manifestations. *J. Clin. Med.* 2021.

Gli autoanticorpi coinvolti nella MG sono rappresentati da:

- Anticorpi diretti contro il recettore per l'acetilcolina (anti-AChR), presenti nell'80/85% dei casi. Gli anti-AChR appartengono principalmente alle sottoclassi delle IgG1 e IgG3 ed esplicano il proprio danno attraverso tre meccanismi: il blocco del recettore, la dimerizzazione di due recettori con conseguente internalizzazione e degradazione e l'attivazione della cascata del complemento, che porta alla formazione del complesso di attacco della membrana (MAC), causando un'aumentata distruzione dei recettori per l'acetilcolina³;
- Anticorpi contro la chinasi muscolo-specifica (anti-MuSK), presenti nel 5-6% dei casi. Gli anti-MuSK appartengono alla sottoclasse delle IgG4 e determinano il danno a livello della giunzione neuromuscolare attraverso il legame al dominio Ig-like della proteina MuSK, impendendone la fosforilazione e la via di segnalazione Agrin-Lrp4-MuSK-Dok7. Attraverso questo meccanismo si ha una riduzione della densità di AchR a livello post-sinaptico;
- Anticorpi contro LRP4 (anti-LRP4), i quali sono soprattutto di tipo IgG1/IgG2 e interrompono l'attivazione di MuSK. Sono talvolta associati ad Ab anti-agrina³;

Sia gli anti-AChR che gli anti-MuSK sono anticorpi patogenetici e quindi responsabili del danno a livello della giunzione neuromuscolare, mentre il ruolo degli anti LRP4 è ancora oggetto di studio.

- Autoanticorpi diretti contro le proteine intracellulari (anti-titina, anti-recettore rianodinico): questi rari anticorpi non sembrano avere un ruolo patogenetico; sono peraltro associati alla presenza di timomi, in quanto si rivelano spesso Ab paraneoplastici;

- Forme sieronegative: esiste un'eterogenea classe di pazienti che risulta essere negativa agli anticorpi finora conosciuti. In generale presentano delle analogie con i pazienti anti-AChR+ per quanto riguarda la clinica, la prognosi e la risposta al trattamento³.

1.3.1 Ruolo del timo

Il timo è un organo linfoide primario situato nel mediastino anteriore superiore, con un peso che può variare da 12 ai 40 g. È un organo particolare che fino alla pubertà si caratterizza per una crescita e un'attività importante, successivamente per effetto degli ormoni sessuali va incontro a una progressiva involuzione fino a residuare in una struttura prevalentemente adiposa.

Il timo svolge la funzione di portare a maturazione i linfociti T prodotti nel midollo osseo, tale processo di maturazione si divide in una fase di selezione positiva e in una di selezione negativa:

- Selezione positiva; durante questa fase si ha la creazione e selezione dei recettori peptidici, che saranno eventualmente presenti in caso di superamento della selezione sulla superficie dei linfociti T, attraverso il complesso maggiore di istocompatibilità (MHC). Tramite questo processo verranno eliminati i recettori non funzionanti, quindi incapaci di riconoscere eventuali antigeni.

L'eliminazione degli eventuali antigeni non funzionanti si basa sull'affinità tra l'MHC e i potenziali linfociti: se i linfociti si legano all'MHC passano la selezione, altrimenti verranno scartati;

- Selezione negativa; tale selezione ha lo scopo di valutare quali tra i linfociti siano effettivamente in grado di riconoscere gli antigeni ma che allo stesso tempo non siano auto-reattivi, ovvero che non vadano ad agire contro gli autoantigeni del proprio organismo di appartenenza. Il fallimento di questo processo è alla base del fenomeno di auto-reattività presente nelle malattie autoimmuni.

Nonostante rimanga ancora sconosciuto il fattore che determina la risposta autoimmunitaria, la frequente associazione con patologia timica nelle forme AChR+ (60-70% iperplasia, 10-12%

timoma) ed il miglioramento clinico dopo timectomia hanno portato a ipotizzare un ruolo del timo nella produzione di anticorpi responsabili della malattia.

Si ipotizza quindi che nei pazienti miastenici ci sia un'alterazione della selezione negativa: nel timo sono presenti infatti cellule simil muscolari (cellule mioidi) presentanti sulla loro superficie molecole di AChR che verrebbero riconosciute erroneamente come antigeni non-self, determinando la reazione autoimmune. La presentazione di questo antigene provocherebbe una maturazione di linfociti T autoreattivi con creazione di centri germinativi, attivazione del complemento e iperplasia della ghiandola, condizione riscontrata di frequente nei pazienti affetti da Miastenia AChR+ (Leite et al., 2007) ⁸.

L'associazione patogenetica della Miastenia AChR+ con il timoma è meno chiara; in presenza di timoma si rileva spesso la positività di anticorpi anti-titina e rianodina, proteine intracellulari del muscolo, la cui presenza è associata a una peggiore prognosi.

Nell'ambito della Miastenia Gravis si trovano quadri di patologia timica differenti:

- Pazienti con timo normale/atrofico, generalmente più frequente nella forma late onset;
- Pazienti affetti da timoma (10-15%), presente con uguale frequenza negli uomini e nelle donne, potendo esordire a qualunque età ma con un picco intorno ai 50 anni (Romi et al., 2011)⁹;
- Pazienti un'iperplasia timica (80%), con proliferazione di nuovi centri germinativi, più frequente nelle donne e nella forma early onset.

1.4 Clinica e classificazione

La clinica della MG è dominata da essenzialmente due sintomi principali: debolezza muscolare e faticabilità, definita come la precoce esauribilità della forza muscolare. Tali sintomi tendono a regredire o migliorare con il riposo.

Il tipico paziente miastenico infatti peggiora dopo attività fisica o verso la fine della giornata.

In ordine di presentazione i sintomi tipici sono:

- Ptosi palpebrale, più frequentemente asimmetrica, e diplopia binoculare, presente nell'85-95% dei pazienti, per il coinvolgimento della muscolatura oculare estrinseca e dell'elevatore della palpebra superiore;
- Coinvolgimento della muscolatura mimica e bulbare nel 20% dei casi, con sviluppo di disartria, ipofonia, rinolalia, faticabilità masticatoria e disfagia;
- Ipostenia prossimale degli arti nell'8-20%;
- Debolezza assiale con caduta del capo;
- Coinvolgimento respiratorio, sintomatologia che può presentarsi associata a coinvolgimento bulbare in fase precoce nei pazienti late onset, in quelli con timoma oppure in seguito alla somministrazione di alcuni farmaci controindicati (Estephan et al., 2022)¹⁰.

La variabilità clinica può, in alcuni casi, suggerire la positività anticorpale sottostante: per esempio le forme di MG associate a positività agli Ab anti-MuSK hanno più spesso un marcato coinvolgimento bulbare; inoltre è stata evidenziata un'assenza del coinvolgimento timico e scarsa risposta al trattamento³. Più variabile è invece la clinica dei pazienti con Ab anti-AChR o anti LRP-4 (quest'ultima spesso con fenotipo clinico più lieve, con un 20% limitato a coinvolgimento oculare).

Esistono infine combinazioni sierologiche estremamente rare, in pazienti con anticorpi anti-LRP4 e anti-agrina, che possono portare ad una sintomatologia più grave³.

Nella maggior parte dei pazienti l'esordio è oculare con ptosi asimmetrica e/o diplopia.

La Miastenia può rimanere limitata al coinvolgimento della muscolatura oculare estrinseca (miastenia oculare) oppure generalizzare con varia associazione dei sintomi già descritti (Miastenia Gravis).

Per definire una miastenia come oculare, il paziente deve mantenere stabilmente sintomi limitati al distretto oculare estrinseco per almeno 2 anni³. Dal punto di vista laboratoristico si riscontra nel

60% dei casi positività ad anticorpi AChR o LRP4 a basso titolo; le restanti forme sono solitamente sieronegative¹⁰.

Anche in base all'età d'esordio possiamo riscontrare quadri clinici differenti.

Nelle forme early-onset, con un rapporto femmina/maschio pari a 3:1, vi è un' aumentata incidenza di iperplasia timica associata alle forme con Ab anti-AChR; in questi pazienti è sempre da prendere in considerazione la timectomia al fine di ottenere al meglio una remissione duratura della malattia, o almeno lo stato di minime manifestazioni cliniche.

Nelle forme late-onset, frequente nei pazienti di sesso maschile, al contrario, è raro riscontrare patologia timica (al limite atrofia) e non c'è chiara evidenza di beneficio dalla timectomia, che va quindi valutata caso per caso³.

Infine nelle forme very-late-onset (VLOMG), che rappresentano una classe con incidenza crescente negli ultimi anni, ci si trova spesso di fronte ad un esordio più grave ed un rischio più elevato di esacerbazione, complici le comorbidità dei pazienti in questa fascia d'età. La rimozione chirurgica del timo è meno considerata a causa della fragilità di questa tipologia di pazienti che li espone ad elevato rischio operatorio (Zheng et al., 2022)¹¹.

A livello internazionale esiste una classificazione clinica molto utilizzata, la *Myasthenia Gravis Foundation of America* (MGFA), per standardizzare l'eterogeneità sintomatologica dei pazienti, anche al fine di arruolamento in trattamenti con farmaci sperimentali.

Myasthenia Gravis Foundation of America Clinical Classification^a

Class	Description
I	Any ocular muscle weakness May have weakness of eye closure All other muscle strength is normal
II	Mild weakness affecting other than ocular muscles May also have ocular muscle weakness of any variety
IIa	Predominantly affecting limb or axial muscles or both May also have lesser involvement of oropharyngeal muscles
IIb	Predominantly affecting oropharyngeal or respiratory muscles or both May also have lesser or equal involvement of limb or axial muscles or both
III	Moderate weakness affecting other than ocular muscles May also have ocular muscle weakness of any severity
IIIa	Predominantly affecting limb or axial muscles or both May also have lesser involvement of oropharyngeal muscles
IIIb	Predominantly affecting oropharyngeal or respiratory muscles or both May also have lesser or equal involvement of limb or axial muscles or both
IV	Severe weakness affecting other than ocular muscles May also have ocular muscle weakness of any severity
IVa	Predominantly affecting limb or axial muscles or both May also have lesser involvement of oropharyngeal muscles
IVb	Predominantly affecting oropharyngeal or respiratory muscles or both May also have lesser or equal involvement of limb or axial muscles or both
V	Defined by intubation, with or without mechanical ventilation, except when employed during routine postoperative management; the use of a feeding tube without intubation places the patient in class IVb

FIGURA N.2

Da: Ciafaloni E. Myasthenia Gravis and Congenital Myasthenic Syndromes. *Contin Lifelong Learn Neurol.* 2019 ¹²

La Classe V della MGFA individua la cosiddetta crisi miastenica, definita come una grave compromissione acuta dei muscoli respiratori e bulbari che causa un'insufficienza respiratoria con rischio di inalazione. Si può verificare all'esordio nel 20% dei casi o comunque nel primo anno di malattia, quando la patologia è nella sua fase più attiva e di maggiore instabilità (Juel et al., 2004)¹³.

La crisi miastenica è un'emergenza medica che va prontamente riconosciuta e trattata tramite supporto respiratorio e terapia con plasmateresi o somministrazione di immunoglobuline per via endovenosa (0.4gr/Kg/die per 5 giorni).

Non è sempre possibile identificare il fattore scatenante la crisi miastenica, ma tra le cause più frequenti troviamo infezioni broncopulmonari, stress fisici elevati (interventi chirurgici, traumi), puerperio, reazione iniziale paradossa a terapia steroidea ad alte dosi, una lunga lista di farmaci anche di uso comune che interferiscono con la trasmissione neuromuscolare (ad esempio antibiotici come penicillina, aminoglicosidi o fluorochinoloni, beta bloccanti, calcio antagonisti, magnesio somministrato per via e.v., idrossiclorochina, ecc)¹³.

Un'altra scala più recente, di crescente interesse, è la *Myasthenia Gravis Activities of Living (MG-ADL)*, che viene invece utilizzata allo scopo di misurare i sintomi e lo stato funzionale dei pazienti.

TABLE 1

MG-ADL profile⁹

Symptom	0	1	2	3	Score (0, 1, 2, 3)
1. Talking	Normal	Intermittent slurring of nasal speech	Constant slurring or nasal, but can be understood	Difficult to understand speech	
2. Chewing	Normal	Fatigue with solid food	Fatigue with soft food	Gastric tube	
3. Swallowing	Normal	Rare episode of choking	Frequent choking necessitating changes in diet	Gastric tube	
4. Breathing	Normal	Shortness of breath with exertion	Shortness of breath at rest	Ventilator dependence	
5. Impairment of ability to brush teeth or comb hair	None	Extra effort, but no rest periods needed	Rest periods needed	Cannot do one of these functions	
6. Impairment of ability to arise from a chair	None	Mild, sometimes uses arms	Moderate, always uses arms	Severe, request assistance	
7. Double vision	None	Occurs, but not daily	Daily, but not constant	Constant	
8. Eyelid droop	None	Occurs, but not daily	Daily, but not constant	Constant	
MG-ADL total score (items 1-8)					

FIGURA N.3

Da: Muppidi S. Utilization of MG-ADL in myasthenia gravis clinical research and care. *Muscle Nerve*. 2022 ¹⁴

Un'altra scala utilizzata per quantificare la gravità della MG è la Quantitative Myasthenia Gravis (qMG), composta da 13 items che includono la valutazione della funzione oculare, bulbare, respiratoria e degli arti, con un punteggio totale che può variare da 0 (assenza di deficit) a 39 (sintomatologia più grave).

Test Item Grade	0	1	2	3
Double vision on lateral gaze right or left (circle one)	61 sec	11–60 sec	1–10 sec	Spontaneous
Ptosis (upward gaze)	61 sec	11–60 sec	1–10 sec	Spontaneous
Facial muscles	Normal lid	Complete, weak, some resistance	Complete, without resistance	Incomplete
Swallowing 4 oz water (½ cup)	Normal	Minimal coughing or throat clearing	Severe coughing/choking or nasal regurgitation	Cannot swallow (test not attempted)
Speech following counting aloud from 1 to 50 (onset of dysarthria)	None at #50	Dysarthria at #30–49	Dysarthria at #10–29	Dysarthria at #9
Right arm outstretched (90° sitting)	240 sec	90–239 sec	10–89 sec	0–9 sec
Left arm outstretched (90° sitting)	240 sec	90–239 sec	10–89 sec	0–9 sec
Vital capacity (% predicted)	≥80%	65–79%	50–64%	<50%
Right-hand grip (KgW)				
Male				
Female	≥45	15–44	5–14	0–4
	≥30	10–29	5–9	0–4
Left-hand grip (KgW)				
Male				
Female	≥35	15–34	5–14	0–4
	≥25	10–24	5–9	0–4
Head, lifted (45° supine)	120 sec	30–119 sec	1–29 sec	0 sec
Right leg outstretched (45° supine)	100 sec	31–99 sec	1–30 sec	0 sec
Left leg outstretched (45° supine)	100 sec	31–99 sec	1–30 sec	0 sec

FIGURA N.4

Da: Barohn R.J. et al., Reliability testing of the quantitative myasthenia gravis score. *Ann NY Acad Sci.* 1998 ¹⁵

1.4.1 Minime manifestazioni cliniche

Con lo sviluppo di nuove terapie farmacologiche e delle terapie intensive, la prognosi della MG e la mortalità ad essa associata hanno subito un miglioramento, per cui per più pazienti è stato possibile raggiungere lo stato di minime manifestazioni cliniche (MMS).

Con MMS si intende la presenza di debolezza muscolare, rilevata all'esame obiettivo, in assenza di sintomi o di limitazioni funzionali dalla malattia. L'attuale definizione si basa sulla valutazione della sintomatologia dei pazienti e sull'impatto che questa ha sulla vita quotidiana.

Nelle linee guida internazionali MMS rappresenta quindi un obiettivo fondamentale del trattamento della MG (Ping et al., 2022)¹⁶.

Il raggiungimento dello stato di MMS è suddiviso in due fasi: la fase di induzione e la fase di mantenimento.

Uno studio effettuato da Utsugisawa et al.¹⁷ mostra come un trattamento farmacologico intensivo dagli esordi della malattia permette di raggiungere MMS più frequentemente e in tempi minori, evitando l'utilizzo di steroidi a lungo termine e ad alte dosi, migliorando la qualità di vita di tali pazienti.

Per quanto riguarda i fattori associati sembrerebbe che un coinvolgimento oculare isolato e un basso punteggio alla scala qMG siano maggiormente associati al raggiungimento precoce di MMS (Li et al., 2022)¹⁸.

1.5 Diagnosi

La diagnosi di MG è suggerita dalla clinica e successivamente confermata dall'esame anticorpale, dagli studi elettrofisiologici e supportata anche da esami radiologici per evidenziare l'eventuale presenza di un'alterazione timica¹⁰.

1.5.1 Valutazione clinica

Dal punto di vista clinico è possibile sospettare la presenza di questa sindrome quando dal punto di sintomatologico il paziente riferisce debolezza muscolare dopo esercizio fisico, con un peggioramento serale e un miglioramento al riposo.

È possibile evocare la sintomatologia in questione attraverso una serie di prove:

- Per valutare gli arti superiori si chiede al paziente di mantenere gli arti sopra la testa completamente estesi per un numero di volte compreso tra le 10 e le 15 volte;
- In alternativa è possibile chiedere al paziente di mantenere gli arti superiori abdotti per 60 secondi, valutando se c'è caduta degli arti per faticabilità e dopo quanto tempo dall'inizio della prova;

- Per gli arti inferiori si chiede al paziente di alzarsi e sedersi dalla sedia in maniera ripetitiva senza il supporto delle mani per un numero compreso tra le 5 e le 10 volte;
- Un'altra prova per valutare gli arti inferiori consiste nel far assumere al paziente la posizione di Mingazzini 2 (paziente supino con occhi chiusi, cosce divaricate e flesse ad angolo retto sul bacino e gambe flesse sulle cosce) per 60 secondi, valutando se c'è caduta degli arti per faticabilità e dopo quanto tempo dall'inizio della prova¹⁰.

Ci sono inoltre una serie di test clinici a cui il paziente può essere sottoposto al fine di evidenziare l'esauribilità muscolare e la sua reversibilità, tipiche di questa patologia:

- Biefang test: al paziente viene chiesto di chiudere in maniera forzata gli occhi per un lasso di tempo compreso tra i 5 e i 10 secondi, portando all'affaticamento del muscolo orbicolare dell'occhio responsabile della chiusura degli occhi e al rilassamento del muscolo elevatore delle palpebre superiore. Al termine del periodo di chiusura oculare il paziente è invitato a guardare un punto fisso davanti a lui, il test risulta quindi positivo quando si osserva un peggioramento del grado di ptosi dal momento che il muscolo elevatore della palpebra è maggiormente rilassato rispetto al muscolo orbicolare dell'occhio;
- Simpson test: la prova consiste nel far mantenere lo sguardo rivolto verso l'alto per 1-2 minuti, a seguito del quale è possibile osservare un peggioramento della ptosi;
- Segno di Cogan: consiste in un rapido movimento verso l'alto della palpebra superiore prima di tornare nella posizione iniziale dopo aver mantenuto lo sguardo verso il basso per una decina di secondi;
- Invitando il paziente a sorridere è possibile evidenziare nel paziente miastenico un'asimmetrica ptosi palpebrale compensata parzialmente da un'asimmetrica contrazione del muscolo frontale, con l'elevazione della palpebrale ipsilaterale;
- Ice pack test: si applica un impacco di ghiaccio sull'occhio ptosico per circa due minuti, poi si confronta l'apertura della fessura palpebrale rispetto al grado di apertura precedente.

Solitamente un miglioramento del grado di apertura di 2 mm o più è indicativo di debolezza muscolare miastenica del muscolo elevatore della palpebra. L'effetto migliorativo del freddo è legato alla riduzione dell'attività dell'acetilcolinesterasi con conseguente maggior disponibilità di ACh;

- Test al cloruro di edrofonio: si tratta di un inibitore dell'acetilcolinesterasi a rapida insorgenza d'azione che se somministrato per via endovenosa ad intervalli di 1-2 minuti fino a un massimo di 10 mg può determinare un miglioramento della debolezza muscolare causata da un'anomala trasmissione neuromuscolare come nel caso di MG. Questo test può causare però una serie di effetti avversi di tipo anticolinergico, motivo per cui tale prova è poco utilizzata e controindicata nei pazienti con patologie cardiache e/o respiratorie.

In presenza di una sintomatologia clinica suggestiva di MG la diagnosi dovrà essere confermata tramite test sierologici volti all'identificazione di eventuali autoanticorpi¹⁰.

1.5.2 Test sierologici

La diagnosi di MG può essere posta, insieme alla clinica, con la sierologia tramite l'individuazione di autoanticorpi caratteristici della malattia. La ricerca degli autoanticorpi oltre ad avere un ruolo diagnostico ha un ruolo anche prognostico e terapeutico, indirizzando la strategia terapeutica.

Generalmente i primi anticorpi che vengono cercati, i più specifici di MG, sono gli anti-AChR, presenti approssimativamente nell'80-85% dei pazienti con MG generalizzata e solo nel 55% dei pazienti con sintomatologia oculare.

È stato dimostrato che la concentrazione degli AChR varia notevolmente nei pazienti che presentano anche la stessa gravità di sintomatologia clinica, a testimonianza del fatto che il loro titolo non è predittivo del grado di severità della malattia³.

Gli anti-MuSK si ricercano quando c'è una clinica fortemente suggestiva di coinvolgimento bulbare o in caso di negatività agli anti-AChR, situazione che si verifica nel 20-30% dei casi.

Resta infine un 20% che risulta doppio sieronegativo; in questo caso è possibile ricercare e riscontrare anticorpi diretti contro LRP4.

Nel 75-80% dei pazienti miastenici con timoma è possibile riscontrate Ab anti-titina e rianodina³.

1.5.3 Elettrofisiologia

Gli studi elettrofisiologici vengono effettuati per confermare la disfunzione della giunzione neuromuscolare ed escludere possibili diagnosi differenziali.

Sono due le principali tecniche elettrofisiologiche che valutano la funzione della placca neuromuscolare: la stimolazione nervosa ripetitiva (RNS) e l'elettromiografia di singola fibra (SFEMG).

Per quanto riguarda la *stimolazione nervosa ripetitiva* lo scopo di questo esame è quello di osservare la variazione d'ampiezza del potenziale d'azione motorio durante una serie ripetitiva di stimoli. Nei pazienti miastenici a seguito di questa stimolazione è possibile osservare una graduale riduzione del potenziale d'azione motorio a livello di muscoli come il muscolo abduktore del V dito, il tibiale anteriore, il trapezio superiore, il deltoide, l'orbicolare dell'occhio e il nasale.

Durante questa prova si somministra una stimolazione nervosa ripetitiva a bassa frequenza (<5 Hz).

La prova viene considerata positiva quando si verifica un decremento di almeno il 10% del potenziale d'azione motorio (CMAP) tra il primo ed il quarto potenziale registrato.

La sensibilità di questo studio per la MG varia dal 53 al 100% per la MG nella forma generalizzata, dal 10 al 17% per la forma oculare di MG e del 50% nei pazienti con positività per anticorpi anti-MuSK¹⁰.

La seconda prova di elettrofisiologia che viene effettuata è l'*elettromiografia di singola fibra* (SFEMG), in cui l'evidenza di un danno a livello della placca neuromuscolare si manifesta

attraverso un incremento del “jitter” ovvero un aumento della variazione della latenza temporale tra la depolarizzazione di due fibre muscolari appartenenti alla stessa unità motoria.

Infatti durante la contrazione muscolare, fibre adiacenti che appartengono alla stessa unità motoria si depolarizzano quasi contemporaneamente, con un intervallo tra i due potenziali che rimane costante. Nel paziente miastenico, invece, si può evidenziare un aumento dell’intervallo tra i due potenziali come conseguenza della variazione del tempo di trasmissione.

Questo test rappresenta il miglior metodo dal punto di vista della sensibilità nell’identificare eventuali disordini della giunzione neuromuscolare, con un valore pari al 98%. D’altra parte però, l’elettromiografia ha una ridotta specificità, in quanto il parametro jitter può essere alterato anche in patologie del motoneurone o in alcuni disordini mitocondriali. Una SFEMG normale invece a livello di un muscolo clinicamente affetto rende poco probabile la diagnosi di MG.

I muscoli che vengono comunemente utilizzati sono il muscolo frontale, orbicolare dell’occhio e l’estensore comune delle dita¹⁰.

1.5.4 Esami radiologici

È importante sottoporre il paziente a una TC torace al fine di escludere la presenza di patologia timica. D’altra parte è anche raccomandato studiare i pazienti che presentano un timoma in quanto in un terzo dei casi potrebbero presentare contemporaneamente una MG¹⁰.

1.6 Terapia

La terapia della MG può essere suddivisa in terapia di “fase acuta” e terapia di mantenimento.

La terapia farmacologica della MG si avvale sia di farmaci sintomatici sia di farmaci che hanno l’obiettivo di ridurre la risposta autoimmune¹⁰.

Non sempre il recupero della sintomatologia è completo ma l’obiettivo della terapia farmacologica, nel caso in cui non si raggiunga la remissione totale, è quello di raggiungere un

“minimal manifestation status” (MMS), in cui si hanno minime manifestazioni cliniche che si evidenziano solamente con l’esame neurologico.

1.6.1 Terapia farmacologica sintomatica

Dal punto di vista sintomatologico la MG viene trattata con la *piridostigmina*, un inibitore dell’enzima acetilcolinesterasi che agisce aumentando la disponibilità di acetilcolina a livello della giunzione neuromuscolare.

Le forme di MG generalizzate e le forme oculari AChR+ traggono solitamente beneficio dalla somministrazione della piridostigmina, mentre le forme MuSK+ rispondono poco a tale terapia.

È un farmaco a rapido effetto e breve emivita, il che richiede spesso plurime somministrazioni giornaliere: la posologia comunemente utilizzata è di 60 mg ogni 4-6 ore durante il giorno, se necessario la dose può essere aumentata fino a un massimo di 480 mg al giorno, in base al livello di tolleranza.

Esiste una seconda formulazione RP da 180 mg, utile per diminuire il numero di somministrazioni giornaliere o per migliorare il controllo durante la notte.

È un farmaco generalmente ben tollerato; tra gli effetti collaterali più comuni ricordiamo la diarrea, comune motivo di scarsa tolleranza da parte del paziente. Esiste inoltre il rischio di sovradosaggio, i cui sintomi possono mimare un peggioramento della miastenia: l’eccesso di ACh a livello dei recettori muscarinici causa ipermotilità gastrointestinale, sudorazione, ipersecrezione bronchiale e salivare, bradicardia; l’eccesso di ACh a livello dei recettori nicotinici causa fascicolazioni muscolari e crampi¹⁰.

1.6.2 Terapia farmacologica cronica immunomodulante/immunosoppressiva

La prima linea di terapia prevede gli steroidi, con l’utilizzo del *prednisone* per via orale.

Negli studi osservazionali è stata osservata remissione o marcato miglioramento dei sintomi nel 70-80% delle MG trattate con steroide orale (classe IV di evidenza) (Skeie et al., 2010)¹⁹.

La terapia steroidea in cronico è notoriamente gravata da effetti collaterali come diabete, ipertensione arteriosa, glaucoma e cataratta, osteoporosi, aumento dell'acidità gastrica, aumento ponderale e ritenzione di liquidi, ansia/depressione/insonnia fino alla psicosi, miopatia.

Secondo le Linee Guida EFNS/ENS per il trattamento della Miastenia Gravis, viene raccomandato un dosaggio medio iniziale di 10-25 mg/die. In caso di pazienti particolarmente sintomatici, si opta per il dosaggio di 1 mg/kg/die per ottenere rapido miglioramento, con successivo lento tapering fino alla minima dose efficace.

Bisogna peraltro ricordare che è segnalato un peggioramento della sintomatologia nei pazienti più gravi all'avvio dello steroide ad alte dosi.

La remissione (o comunque il massimo effetto) si osserva in media dopo 4-16 settimane di terapia; raggiunto questo obiettivo, si cerca se possibile di svezzare gradualmente il paziente dalla terapia steroidea con farmaci immunosoppressivi alternativi (“*steroid-sparing*”).

A tal fine i farmaci comunemente utilizzati sono: azatioprina, metotrexato, micofenolato mofetile, ciclosporina, ciclofosfamide e tacrolimus.

Azatioprina (AZA): è l'immunosoppressore classicamente più utilizzato nella MG, soprattutto nel mondo occidentale. Metabolizzato in 6-mercapto-purina, inibisce la sintesi di DNA e RNA ed interferisce con la funzione dei linfociti T.

Il dosaggio terapeutico è tra i 1 mg/kg/die e i 3 mg/kg/die. E' un farmaco generalmente ben tollerato, pur presentando un rischio del 10% di alterazioni epatiche e pancreatiche che vanno dal rialzo asintomatico degli enzimi (che devono quindi essere periodicamente controllati) fino ad una franca epatotossicità o pancreatite che impongono la sospensione della terapia; altri effetti avversi comprendono citopenia su tutte le linee cellulari (reversibile con la sospensione del farmaco, solitamente), febbri ricorrenti e aumentata suscettibilità alle infezioni.

Un limite dell'AZA è la lunga latenza d'azione: il suo effetto pieno è infatti osservabile dopo almeno 6 mesi di terapia, con un range dai 6 ai 24 mesi¹⁰.

Metotrexato (MTX): antimetabolita utilizzato un tempo come terapia oncologica, può essere considerato come alternativa all'AZA. A basse dosi è un farmaco generalmente sicuro e ben tollerato nel trattamento di malattie autoimmuni; i vantaggi del MTX includono un buon rapporto costo-efficacia e moderati effetti collaterali, tra i quali si ritrovano citopenia, infezioni, danni epatici, tossicità mucocutanea e polmonite da ipersensibilità. Effetti avversi gravi sono però rari nei regimi a basso dosaggio (5-25 mg/settimana).

Un recente studio effettuato nel 2022 a sostegno del MTX nei pazienti miastenici ha dimostrato la capacità di tale farmaco di ridurre la somministrazione di steroidi nei pazienti con MG generalizzata di classe II e III nella classificazione MGFA (Di et al., 2022)²⁰.

Micofenolato mofetile (MMF): profarmaco dell'acido micofenolico, inibitore dell'inositolo monofosfato deidrogenasi (che appartiene alla via di sintesi de novo della purina) espresso sui linfociti T e B. Tale farmaco determina una minor produzione della guanosina e l'inibizione quindi della sintesi del DNA e RNA, con conseguente effetto antiproliferativo sui linfociti. Nella pratica clinica il MMF è usato più frequentemente come seconda linea dopo l'AZA, al dosaggio di 1000 mg x2/die; richiede il monitoraggio periodico dell'emocromo e degli enzimi epatici. Il MMF è inoltre teratogeno quindi non è il farmaco di scelta nella donna in età fertile (Menon et al., 2022)²¹.

Ciclosporina: agisce interferendo con la segnalazione della calcineurina, andando così a impedire l'attivazione delle cellule T-helper. La ciclosporina è stato il primo immunosoppressore dimostratosi efficace nel trattamento della MG.

La dose iniziale di ciclosporina è di solito 3 mg/kg/die. Così come per i corticosteroidi, l'obiettivo è quello di ridurre la ciclosporina alla dose più bassa che mantiene l'efficacia del trattamento. Durante la terapia è importante tenere monitorati i seguenti parametri: creatinina, azoto ureico e parametri di funzionalità epatica (Farmakidis et al., 2018)²².

I principali effetti avversi che limitano la tollerabilità della ciclosporina sono la tossicità renale acuta e l'ipertensione. Inoltre la ciclosporina è stata associata anche ad aumentato rischio di tumori maligni, in particolare dermatologici.

Ciclofosfamide: è un farmaco che può essere somministrato con boli per via EV ogni 4-12 settimane o con una dose giornaliera di 1-2 mg/kg per OS. Tale farmaco è un agente anchilante che modifica la base guanina del DNA conferendole proprietà citotossiche, sopprimendo così la replicazione delle cellule del midollo osseo e la funzione immunitaria delle cellule B e T.

Studi clinici hanno dimostrato il miglioramento della MG e una riduzione dell'utilizzo di steroidi nei pazienti trattati con questo principio attivo²².

Tra gli effetti collaterali di tale farmaco si riporta alopecia, leucopenia, nausea, vomito, cistite emorragica.

Tacrolimus: è un farmaco antirigetto che è stato dimostrato efficace in casi di MG refrattaria. In seguito infatti alla somministrazione di tale farmaco è stato evidenziato che la maggior parte dei pazienti è stata in grado di interrompere la terapia con gli steroidi²².

1.6.3 Terapie parenterali

Esistono due terapie, l'infusione di immunoglobuline ev (IVIg) e la plasmaferesi, utilizzate in caso di esordio severo acuto, di riesacerbazioni e crisi miasteniche: entrambe hanno lo scopo di spegnere la risposta immunitaria in maniera rapida e sistemica. La loro durata di efficacia varia dalle 4 alle 12 settimane, rendendo necessaria una terapia immunosoppressiva o la ripetizione del ciclo di terapia parenterale per il controllo a lungo termine della malattia.

La scelta di una piuttosto che dell'altra tecnica dipende principalmente dalle caratteristiche del paziente e dall'esperienza del clinico.

- *Plasmaferesi*: procedura che consiste nella rimozione degli anticorpi con una filtrazione del sangue, attraverso una membrana o centrifugazione. Richiede un accesso venoso centrale e consta di 4-5 sedute di scambio plasmatico, solitamente effettuate a giorni alterni. Il miglioramento clinico si rende evidente durante la prima settimana e può durare da 1 a 3 mesi¹⁰.

Trattandosi di un procedimento fisico, il beneficio è indipendente dalle caratteristiche anticorpali del paziente. Si tratta tuttavia di una procedura notevolmente invasiva, che richiede un regime di ricovero; tra le controindicazioni vi è lo scarso compenso di circolo con instabilità emodinamica e l'intolleranza/impossibilità di ricevere eparina.

- *Immunoglobuline ev (IVIg)*: utilizzate al dosaggio di 0.4 g/kg/die per 5 giorni consecutivi di terapia. Possono essere utilizzate in casi gravi come prima scelta o come mantenimento a seguito del ciclo di sedute di plasmaferesi (mentre non è possibile il contrario, in quanto verrebbero filtrate le immunoglobuline appena somministrate). Esistono anche pazienti, refrattari a farmaci immunosoppressori o che non possono assumerli a causa di comorbidità e controindicazioni, per i quali le IVIg diventano sostanzialmente una terapia cronica ripetuta ogni 4-8 settimane.

Esiste anche la possibilità di somministrare le immunoglobuline sottocute: questa terapia in cronico ha dimostrato la non inferiorità rispetto alla somministrazione endovenosa, consentendo una miglior qualità di vita ai pazienti con possibilità di gestione a domicilio del farmaco. In questo caso il dosaggio è equivalente a quello endovenoso, con infusioni a intervalli fissi a seconda del numero di flaconi su peso (es. a giorni alterni o ogni 3 giorni) (Alcantara et al., 2022)²³.

1.6.4 Timectomia

In caso di MG associata a timoma l'intervento chirurgico di rimozione del tumore è mandatorio per motivi prima di tutto oncologici; in base all'istologico si possono prendere in considerazione anche chemioterapia e radioterapia adiuvanti.

Nelle forme generalizzate di MG con positività per gli anticorpi anti-AChR di età compresa tra i 18 e i 50, le ultime raccomandazioni del 2020 danno indicazione alla rimozione di residuo timico;

al di sopra di tale età, la decisione deve essere personalizzata in base al rapporto rischi/benefici del singolo paziente.

Per quanto riguarda le forme di MG oculare con Ab anti-AChR che non rispondono in maniera adeguata agli anticolinesterasici e che scelgono di non assumere immunosoppressori o non rispondono a tale terapia, la timectomia può essere considerata, sebbene non vi siano dati conclusivi sulla sua efficacia in questa forma.

Con le evidenze ad oggi disponibili la timectomia non è invece raccomandata nei pazienti con positività per gli anticorpi MuSK, LRP4 e agrina.

Nei pazienti prepuberi l'indicazione alla timectomia è incerta ma potrebbe essere presa comunque in considerazione nei bambini con forme di MG generalizzata con anti-AChR. Per i bambini con diagnosi di MG generalizzata sieronegativa, si dovrebbe considerare la possibilità di una sindrome miastenica congenita o di un'altra condizione neuromuscolare prima di valutare la timectomia (Narayanaswami et al., 2021)²⁴.

Il fine è quello della remissione clinica, o quando non è raggiungibile si mira a diminuire la durata o la dose dell'immunoterapia. È stato evidenziato dall'MGTX trial (Randomized Trial of Thymectomy in Myasthenia Gravis) che pazienti che avevano subito timectomia raggiungevano più spesso una condizione di minimal manifestation status duratura, anche in assenza di terapia steroidea.

L'intervento di timectomia viene svolto in elezione, ovvero in una fase stabile di malattia: gli interventi chirurgici rappresentano infatti di per sé un importante trigger per il peggioramento della miastenia, oltre al rischio correlato ai farmaci anestetici e bloccanti neuromuscolari.

1.6.5 Trattamento della crisi miastenica

La crisi miastenica è un'emergenza medica, definita dalla necessità di ventilazione artificiale (Classe V MGFA). Il manifestarsi di una crisi miastenica richiede un ricovero in ambiente ad alta intensità di cura e un'attenta osservazione delle funzioni respiratorie e bulbari.

Le cause più frequenti sono infezioni (soprattutto respiratorie), interventi chirurgici, traumi e forti stress fisici, errori nell'assunzione delle terapie (compresa l'assunzione di farmaci controindicati).

Solitamente plasmateresi e IVIg sono i trattamenti di prima scelta in associazione alla terapia corticosteroidica; fondamentale resta il trattamento della causa scatenante¹³.

2. Miastenia Gravis: forme refrattarie al trattamento

Nel corso degli ultimi anni si è assistito a un miglioramento della prognosi dei pazienti miastenici, con una sostanziale riduzione della mortalità e morbidità. Nonostante ciò, rimane circa un 10-15% della popolazione miastenica che non risponde adeguatamente a più linee terapeutiche (corticosteroidi, azatioprina e ciclosporina) e viene pertanto considerata refrattaria al trattamento (Mantegazza et al., 2018)²⁵.

2.1 Definizione di Miastenia Gravis refrattaria al trattamento

Attualmente non è presente una definizione universalmente accettata di "Miastenia Gravis refrattaria al trattamento".

Esistono però alcune definizioni, utilizzate solitamente ai fini di accesso a studi clinici, che descrivono la condizione clinica in questione²⁴:

- Inadeguata risposta clinica alle convenzionali terapie: con questa definizione vengono inclusi pazienti che hanno un'insufficiente risposta, caratterizzata da persistente debolezza da moderata a grave nonostante la somministrazione delle massime dosi

consentite di steroidi e di un farmaco immunosoppressivo adeguatamente somministrato per dose e durata;

- Incapacità di ridurre la terapia immunosoppressiva senza ricadute cliniche o la necessità di “rescue therapy”, come immunoglobuline per via endovenosa o plasmaferesi: questa definizione include coloro che sono stati avviati alla terapia immunosoppressiva, da cui hanno ottenuto beneficio, senza però andare incontro a una progressiva riduzione della stessa venendo così esposti al potenziale effetto collaterale associato al loro uso;
- Presenza di severi effetti collaterali dovuti alla terapia immunosoppressiva: questa affermazione si associa in maniera più accurata alla definizione di “MG intollerante al trattamento” piuttosto che “MG resistente al trattamento”. Tuttavia, dal momento che il risultato finale è lo stesso, ovvero l’incapacità di trattare adeguatamente tale patologia utilizzando la terapia convenzionale, tale definizione è stata ugualmente presa in considerazione;
- Presenza di comorbidità concomitanti che limitano l’utilizzo delle terapie convenzionali: come per la definizione precedente, anche in questo caso è più corretto parlare di “MG intollerante al trattamento”;
- Presenza di frequenti crisi miasteniche nonostante la terapia in atto: condizione di emergenza medica che richiede un’ospedalizzazione e testimonia una mancata efficacia del trattamento in atto²⁵.

2.2 Clinica associata alla Miastenia Gravis refrattaria

Diversi studi sono stati condotti al fine di identificare i fattori che sono maggiormente associati alla “treatment-refractory MG”.

Ciò che è emerso da studi condotti da Baggi F. e Suh J e colleghi^{26,27} è che le forme di MG più severe e più resistenti al trattamento sono associate alla presenza degli Ab anti-MuSK, le quali

tendono a manifestarsi con maggior prevalenza nella popolazione femminile e con sintomatologia clinica bulbare/respiratoria.

Attualmente non sono del tutto chiarite le ragioni di questa severità delle forme anti-MuSK, ma evidenze sosterrebbero che gli Ab anti-MuSK, seppure in modo indipendente dall'attivazione del complemento, distruggerebbero più componenti della giunzione neuromuscolare, inclusi i componenti che aiuterebbero a stabilizzare i recettori dell'acetilcolina (AChR) alla membrana postsinaptica.

È importante in ogni caso sottolineare che, anche se la proporzione di pazienti anti-AChR+ con MG refrattaria sia minore rispetto ai pazienti anti-MuSK+ refrattari al trattamento, numericamente parlando i pazienti anti-AChR+ sono di gran lunga prevalenti sul totale.

Questi ultimi in particolare risultano difficili da trattare quando associati alla presenza di timoma²⁶. Nello studio condotto da Baggi et al. la percentuale di remissione stabile completa da malattia era più bassa nei pazienti con timoma che in quelli con iperplasia timica o timo atrofico^{25,26}.

2.3 Terapie emergenti

Se le terapie classiche non sono sufficienti nel determinare una buona risposta clinica o se gli effetti collaterali associati non sono tollerabili, o se ancora la plasmferesi o le immunoglobuline debbano essere utilizzate in cronico per garantire una sufficiente stabilità clinica, possono essere prese in considerazione terapie di più recente formulazione che stanno modificando il panorama terapeutico nella popolazione miastenica refrattaria al trattamento²⁵.

In seguito alla comprensione degli eventi molecolari coinvolti nella patogenesi e progressione della MG, sono stati testati un numero crescente di anticorpi monoclonali, utili soprattutto nel trattamento di forme di MG refrattaria.

Il *Rituximab* ha come bersaglio la proteina CD20, espressa dalle cellule B mature. Tale farmaco è utilizzato in diverse malattie autoimmuni e nel Linfoma non-Hodgkin.

Le linee guida del 2021 sulla gestione della MG considerano tale farmaco da riservare alle forme refrattarie o intolleranti ai farmaci convenzionali; tuttavia il suo utilizzo precoce va considerato nei pazienti anti-MuSK+, per la severità dei loro quadri clinici e per la buona risposta al trattamento. Un limite di questo farmaco è la lunga latenza d'azione, che può essere anche di alcuni mesi²⁵.

Eculizumab è diretto contro il frammento C5 del complemento: andando a inibire la scissione nei suoi due componenti C5a e C5b, il farmaco impedisce la formazione del complesso MAC C5b-9. Tale farmaco, la cui efficacia e sicurezza è comprovata, trova indicazione per il trattamento dell'emoglobinuria parossistica notturna (EPN), della sindrome uremico emolitica atipica (SEUa) e nel disturbo dello spettro della neuromielite ottica (NMOSD) in pazienti positivi agli anticorpi anti-acquaporina 4 (AQP4). Inoltre, dal 2017, è stato approvato per le forme di MG anti-AchR+ refrattarie alla terapia standard²¹. Non è utilizzabile nelle forme MuSK in quanto date da Ab IgG4, che non attivano il complemento.

L'inibizione del complemento predispone a infezioni da organismi capsulati, in particolare da *Neisseria Meningitidis*; per tale motivo è necessaria la vaccinazione (o quando controindicata, la profilassi antibiotica) prima di cominciare la terapia con *Eculizumab*.

È in corso di commercializzazione un farmaco con lo stesso meccanismo, ma con emivita più lunga, *Ravulizumab*, somministrabile per via ev ogni 8 settimane.

Il settore dei farmaci anti-complemento è oggi in forte espansione, per l'efficacia che hanno dimostrato i primi composti sopra citati unitamente alla loro rapidità di efficacia in casi gravi e instabili di malattia²⁵.

Efgartigimod è un frammento ingegnerizzato Fc di anticorpo IgG1 umano progettato per avere un'aumentata affinità per il recettore neonatale (FcRn), il quale svolge un ruolo nel riciclaggio delle IgG, aumentandone l'emivita in circolo e prevenendone la degradazione nei lisosomi. Il

farmaco, attraverso un meccanismo di competizione, si lega al FcRn, impedendo il processo di riciclo, determinando la riduzione del 60/80% dei livelli di immunoglobuline circolanti.

È in via di approvazione in formulazione ev nei pazienti con Ab anti-AChR e MG-ADL>5. Il farmaco nasce per il trattamento delle forme di MG refrattarie al trattamento anti-AChR+ e ha un buon profilo di sicurezza, in quanto riducendo solo le IgG e non le IgM la risposta immunitaria acuta nei confronti di eventuali infezioni non viene interessata (Howard et al., 2021)²⁸.

Contributo sperimentale

3. Background e obiettivi della tesi

La Clinica Neurologica del Policlinico San Martino di Genova è il Centro regionale di riferimento per le patologie neuromuscolari rare. Per tale motivo accoglie pazienti da un ampio bacino che comprende non solo la Liguria, ma anche pazienti provenienti da altre regioni prevalentemente del Nord Italia. Il centro è anche affiliato alla rete europea ERN-NMD.

Al fine di classificare i pazienti dal punto di vista demografico e clinico, è stato istituito un database per i pazienti affetti da Miastenia Gravis.

Lo scopo di questo studio è valutare la distribuzione dei pazienti miastenici seguiti presso il nostro centro in termini di:

- Età di insorgenza e genere
- Tipo di auto-Ab
- Caratteristiche cliniche: forme oculari, forme generalizzate, forme associate a timoma
- Comorbidità
- Compenso clinico
- Farmaci utilizzati ed eventi avversi
- Analizzare, all'interno di tale database, in particolare la sottopopolazione dei pazienti affetti da forme di MG refrattarie ai trattamenti convenzionali e valutare la risposta di questi pazienti alle nuove terapie in un contesto real-life.

Sulla base dei dati analizzati, lo sforzo è quello di proporre un algoritmo di trattamento per queste forme, data la crescente disponibilità di alternative terapeutiche negli ultimi anni. Diventa sempre più chiara la necessità, in questi pazienti difficili, di personalizzare il trattamento e imparare a seguire le diverse fasi di malattia con eventuali switch terapeutici o nuove associazioni.

4. Materiali e metodi

La popolazione oggetto di studio è stata individuata e scelta dal database raccolto su pazienti con diagnosi di MG afferenti alla Clinica Neurologica dell'Ospedale San Martino di Genova e presi in cura dal servizio di Neuroscienze, Riabilitazione, Oftalmologia, Genetica e Scienze materno-infantili (DINOEMI) dal 2016 ad oggi.

Sono stati reclutati 97 pazienti con diagnosi di MG. I dati sono stati raccolti previo consenso informato.

I criteri di inclusione nello studio sono stati:

- Diagnosi di Miastenia Gravis secondo segni e sintomi tipici e la positività ad almeno uno tra: criterio bioumorale (positività agli anticorpi anti – recettore dell'acetilcolina (anti-AChR), anti-Muscle-Specific Kinase (anti-MuSK), altri anticorpi specifici o criterio neurofisiologico (stimolazione nervosa ripetitiva positiva per MG);
- Età maggiore di 18 anni.

I criteri di esclusione sono stati:

- Diagnosi di MG non confermata;
- Pazienti affetti da MG deceduti al momento dell'analisi dei dati;
- Pazienti afferenti ad altri servizi di Neurologia che non siano l'ospedale San Martino di Genova.

Le informazioni contenute nel database derivano da dati informatici del Policlinico San Martino inerenti ricoveri e/o prestazioni ambulatoriali dei 97 pazienti miastenici oggetto di studio, seguiti regolarmente presso il servizio di Neurologia.

Utilizzando un foglio di calcolo elettronico (Microsoft Excel ®) è stato creato un dataset nel quale, per ciascun paziente, sono stati considerati i seguenti dati:

- Genere;
- Età all'esordio della patologia;
- Sintomatologia all'esordio;

- Tipologia di MG (oculare/generalizzata);
- MGFA massimo raggiunto nel corso della storia di malattia;
- Classificazione MG-ADL;
- Esito della neurofisiologia (stimolazione ripetitiva o elettromiografia a singola fibra);
- Anticorpi: è stata considerata la positività per gli anticorpi patogenetici (anti-AChR e anti-MuSK) e l'eventuale presenza di anticorpi MG-associati (anti-LRP4, anti-titina, anti-rianodina). In caso di mancata positività per gli anticorpi in questione il paziente è stato inserito nella categoria delle forme sieronegative;
- Presenza di alterazioni timiche con eventuale timectomia conseguente;
- Terapia sintomatologica con Piridostigmina (Mestinon ®);
- Terapia immunosoppressiva e/o immunomodulatoria effettuata in passato e attualmente: steroidi, Ig EV, Ig SC, plasmaferesi, Azatioprina, Micofenolato mofetile, Methotrexate, Ciclofosfamide, Ciclosporina, Tacrolimus;
- Terapie nuove: Efgartigimod, Eculizumab, Rituximab;
- Presenza di altre patologie autoimmuni associate;
- Comorbidità (con attenzione a malattie respiratorie concomitanti);
- Numero di riesacerbazioni con eventuale necessità di ricovero in rianimazione.

Si specifica che non tutti i pazienti inseriti nel database hanno ricevuto la prima diagnosi presso il Policlinico San Martino, essendo talvolta giunti alla nostra attenzione come seconda visita o post-ricovero; di conseguenza, non c'è omogeneità assoluta nella neurofisiologia (ad es. al Policlinico San Martino viene ricercata una MG solo tramite stimolazione ripetitiva, non viene effettuata l'EMG a singola fibra) né sui titoli anticorpali (sebbene il nostro laboratorio di autoimmunità sia spesso sede di centralizzazione di prelievi provenienti da altri Centri regionali).

5. Risultati

La popolazione in studio si compone di 97 soggetti, di cui 48 maschi (49,5%) e 49 femmine (50,5%).

La descrizione delle caratteristiche generali della popolazione in studio è riportata nella Tabella 1.

Si può notare come l'età d'esordio è mediamente elevata, superiore ai 50 anni d'età in più della metà della popolazione.

TABELLA 1. *Caratteristiche generali della popolazione in studio*

Variabile	Valore osservato
Genere	
Maschio – <i>numero (%)</i>	48 (49,5%)
Femmina – <i>numero (%)</i>	49 (50,5%)
Età	
<i>Media - numero</i>	68,5
<i>Mediana - numero</i>	71
Altre malattie autoimmuni	
<i>Sì - numero (%)</i>	25 (26%)
<i>No - numero (%)</i>	72 (74%)
Comorbidità respiratorie	
<i>Sì - numero (%)</i>	23 (24%)
<i>No - numero (%)</i>	74 (76%)

La Tabella 2 descrive le caratteristiche della MG dei pazienti in studio. Le terapie immunosoppressive croniche presenti nella tabella fanno riferimento ai trattamenti farmacologici in uso, ma anche a quei farmaci sospesi per effetti avversi o per assenza di beneficio clinico.

Il profilo anticorpale nettamente prevalente è quello con positività agli Ab anti-AChR, seguito dai pazienti sieronegativi.

Abbiamo riscontrato in totale 11 casi di timoma maligno, associato a positività ad Ab anti-AChR (eccetto un caso sieronegativo) e in tre casi anche a positività per Ab anti-titina e rianodina.

Dal punto di vista clinico, i sintomi d'esordio prevalgono al distretto oculare e bulbare, talvolta associati; la generalizzazione si verifica nella maggior parte dei casi (solo 25 pazienti risultano ad oggi infatti colpiti da forme di MG esclusivamente oculari).

Esiste un 26% di pazienti che, nonostante le terapie in atto, cade nelle Classi IIIb-IV-V di MGFA, indice di scarso controllo della malattia e bassa qualità di vita. La quasi totalità di questi pazienti risulta ancora dipendente da steroidi in cronico, e 5 pazienti vengono sottoposti a cicli di immunoglobuline ev periodici per mantenere una stabilità sufficiente.

Su 25 pazienti totali di questa categoria, 21 hanno tentato terapia steroid-sparing con azatioprina, che è stata però sospesa in 12 casi per effetti collaterali.

Al secondo posto come immunosoppressore di scelta troviamo il micofenolato mofetile, tentato in 4 pazienti (sospeso però in due casi per effetti avversi).

Due pazienti con Ab anti-MuSK sono invece stati sottoposti a Rituximab come immunosoppressore di scelta.

TABELLA 2. *Dati relativi alla storia della Miastenia Gravis*

Variabile	Valore osservato
Età all'esordio	
Media	59 (16 – 90)

Mediana	63 (16 – 90)
Sintomi all'esordio	
Oculare – <i>numero (%)</i>	48 (49,5%)
Bulbare – <i>numero (%)</i>	15 (15,5%)
Faticabilità – <i>numero (%)</i>	3 (3%)
Oculare e bulbare – <i>numero (%)</i>	24 (25%)
Oculare e faticabilità – <i>numero (%)</i>	5 (5%)
Bulbare e faticabilità – <i>numero (%)</i>	1 (1%)
Altro – <i>numero (%)</i>	1 (1%)
Tipologia di MG	
Oculare – <i>numero (%)</i>	25 (26%)
Generalizzata – <i>numero (%)</i>	72 (74%)
Anticorpi	
Anti-AChR – <i>numero (%)</i>	70 (72%)
Anti – MuSK – <i>numero (%)</i>	2 (2%)
Sieronegativi – <i>numero (%)</i>	8 (8%)
Dati mancanti	17 (18%)
Percentuale sul totale per età d'esordio	
Early onset – <i>numero (%)</i>	19 (20%)
40<y<50 onset – <i>numero (%)</i>	5 (5%)
Late onset – <i>numero (%)</i>	27 (28%)
Very late onset – <i>numero (%)</i>	46 (47%)
Timectomia	
Sì – <i>numero (%)</i>	29 (30%)
No – <i>numero (%)</i>	68 (70%)

Classificazione MGFA	
Classe I	25 (26%)
Classe II	42 (43%)
Classe III	22 (23%)
Classe IV	7 (7%)
Classe V	1 (1%)
Classificazione MG-ADL	
<3 (minime manifestazioni cliniche)	67 (69%)
4<x<5 (moderate manifestazioni cliniche)	14 (14.5%)
>6 (MG refrattaria)	13 (13.5%)
>12 (MG super refrattaria)	3 (3%)
Terapia sintomatica (Mestinon ®)	
Sì – numero (%)	92 (95%)
No – numero (%)	5 (5%)
Terapia immunosoppressiva cronica	
Steroidi – numero (%)	76 (78%)
IVIg – numero (%)	10 (10%)
Azatioprina – numero (%)	44 (45%)
Micofenolato mofetile – numero (%)	6 (6%)
Methotrexate – numero (%)	4 (4%)
Rituximab – numero (%)	4 (4%)
Ciclofosfamide – numero (%)	4 (4%)
Ciclosporina – numero (%)	6 (6%)
Terapia farmacologica rescue	
PEX – numero (%)	24 (25%)

IVIg – numero (%)	22 (23%)
Eventi acuti/rianimazione	
Sì – numero (%)	12 (12%)
No – numero (%)	85 (87%)

Di seguito i grafici rappresentanti alcune variabili della tabella 2.

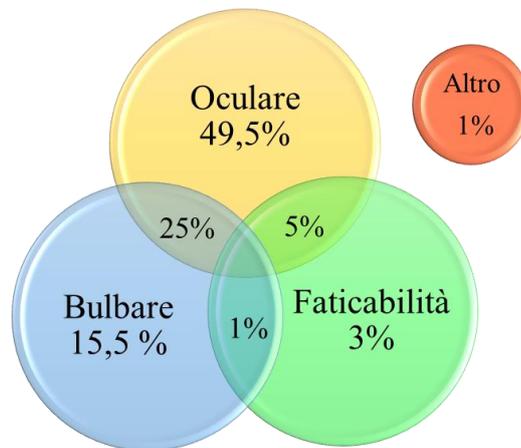


Grafico 1. Sintomi all'esordio

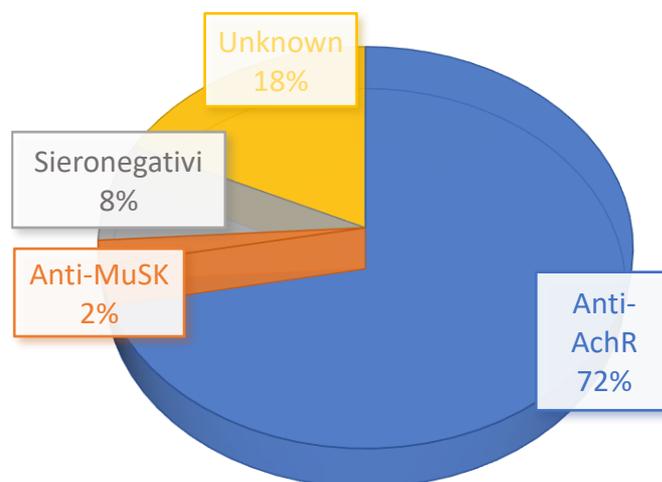


Grafico 2. Anticorpi

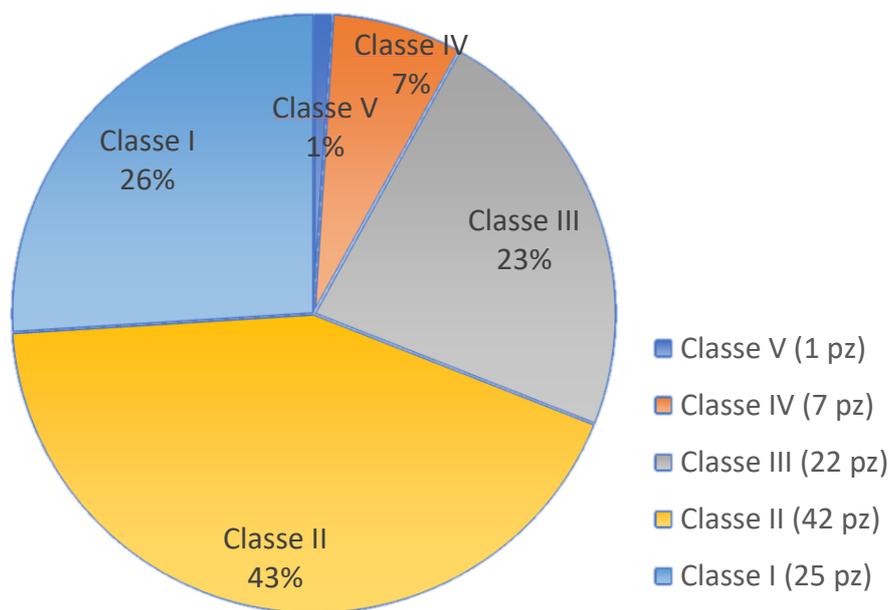
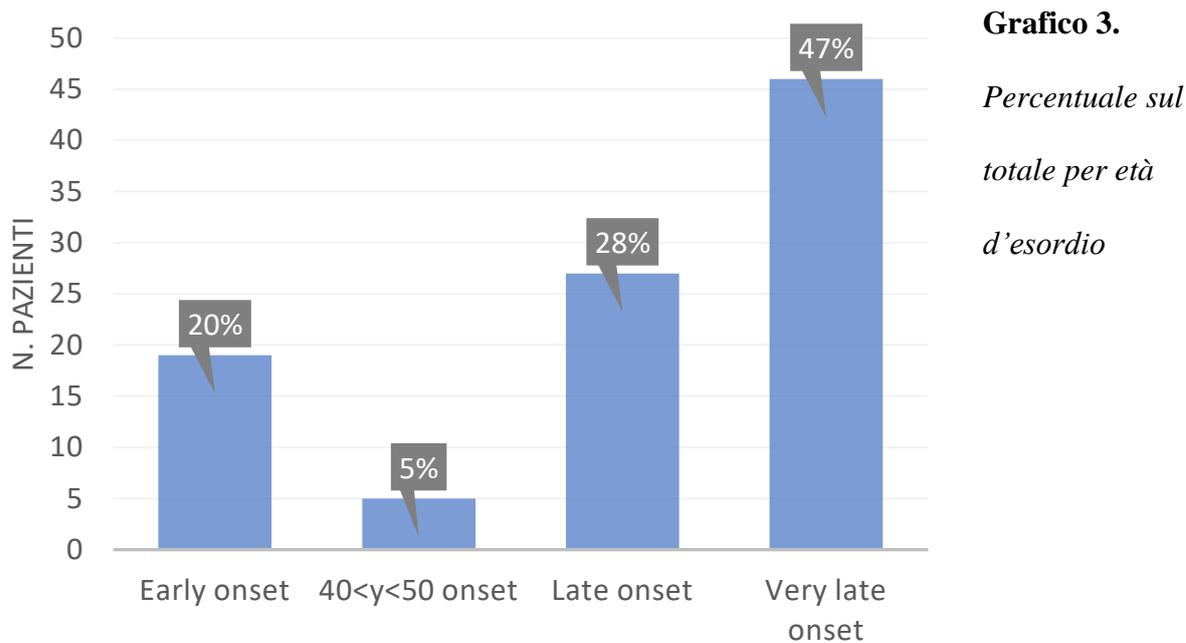


Grafico 4. *Classificazione MGFA (Myasthenia Gravis Foundation of America)*

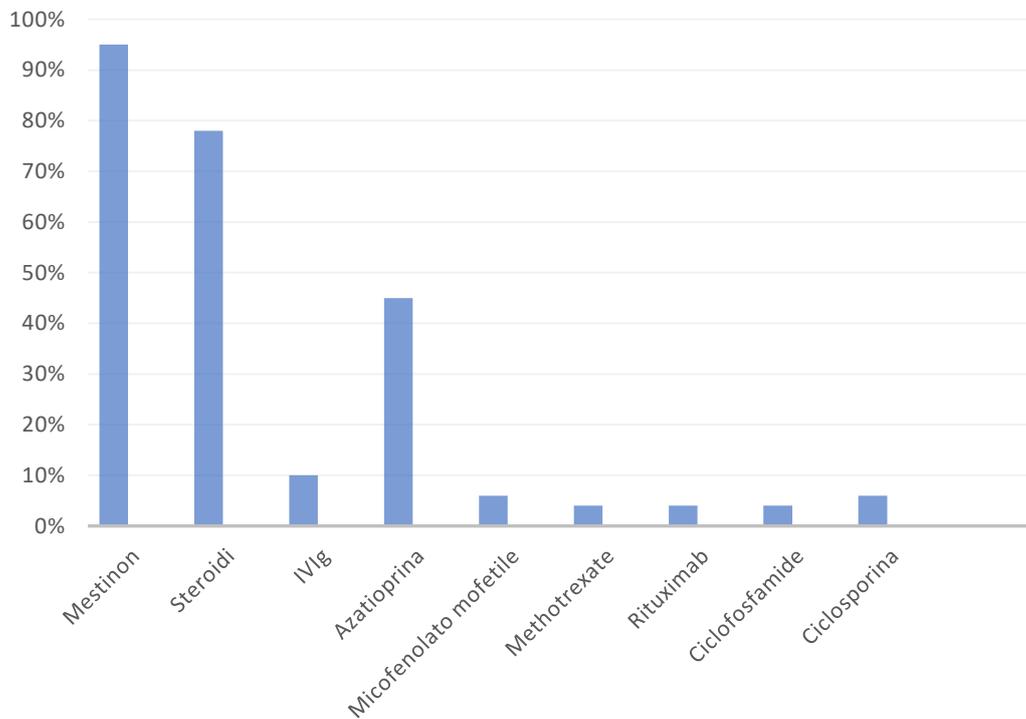
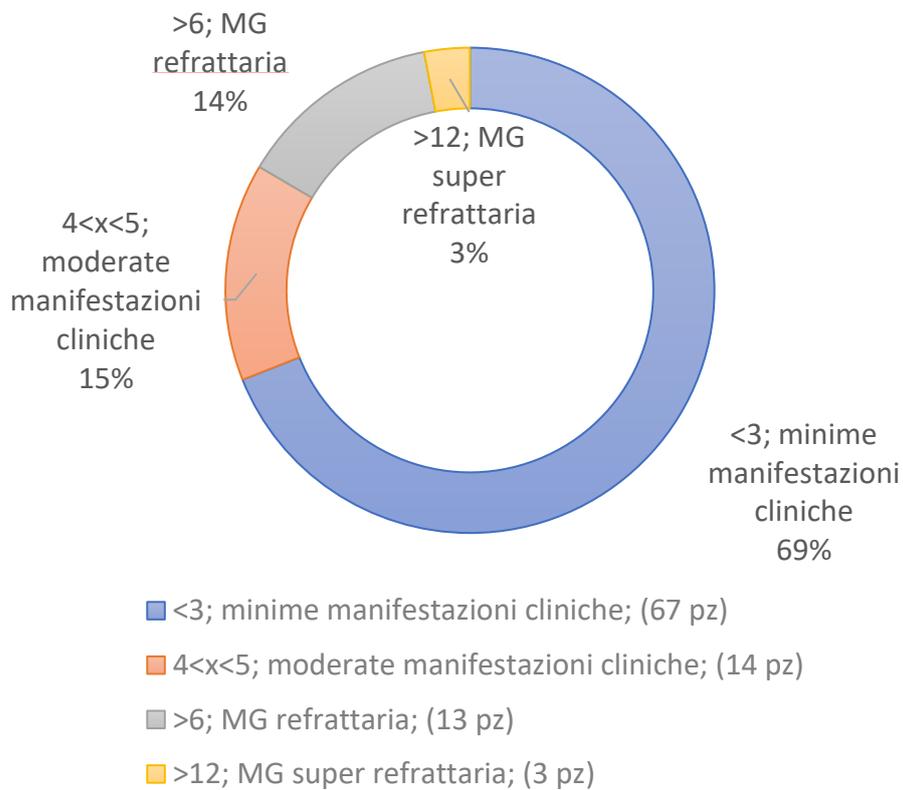


Grafico 6. Terapia immunosoppressiva cronica

TABELLA 3 Studio della popolazione late onset e very late onset

Variabile	Valore osservato	
	Late onset (27)	Very late onset (46)
Totale pazienti (73)		
Anticorpi		
- Anti AChR – numero (%)	21 (78%)	34 (74%)
○ MGFA III+	9 (33%)	10 (22%)
- Anti MuSK	0	1 (2%)
○ MGFA III+	0	1 (2%)
- Sieronegativi	1 (4%)	4 (9%)
○ MGFA III+	0	0
- Dati mancanti	5 (18%)	7 (15%)
MGFA IIIb+ (yes)	8 (29%)	9 (19%)

TABELLA 4. Caratteristiche cliniche dei pazienti MGFA IIIb-IV-V

Variabile	Valore osservato
Totale pazienti MGFA IIIb+	25 (26%)
Età all'esordio	
Media	55 (20 – 78)
Mediana	61 (20 -78)
Sintomi all'esordio	
Oculare – numero (%)	5 (20%)
Bulbare – numero (%)	6 (24%)
Faticabilità – numero (%)	1 (4%)

Oculare e bulbare – <i>numero (%)</i>	11 (44%)
Oculare e faticabilità – <i>numero (%)</i>	1 (4%)
Bulbare e faticabilità – <i>numero (%)</i>	1 (4%)
Tipologia di MG	
Oculare – <i>numero (%)</i>	0
Generalizzata – <i>numero (%)</i>	25 (100%)
Anticorpi	
Anti-AChR – <i>numero (%)</i>	21 (84%)
Anti-MuSK – <i>numero (%)</i>	2 (8%)
Sieronegativi – <i>numero (%)</i>	2 (8%)
Percentuale sul totale per età d'esordio	
Early onset – <i>numero (%)</i>	6 (24%)
40<y<50 onset – <i>numero (%)</i>	2 (8%)
Late onset – <i>numero (%)</i>	8 (32%)
Very late onset – <i>numero (%)</i>	9 (36%)
Timectomia	
Sì – <i>numero (%)</i>	12 (48%)
No – <i>numero (%)</i>	13 (52%)
Classificazione MG-ADL	
<3 (minime manifestazioni cliniche)	11 (44%)
4<x<5 (moderate manifestazioni cliniche)	5 (20%)
>6 (MG refrattaria)	7 (28%)
>12 (MG super refrattaria)	2 (8%)

Di seguito i grafici relativi alla terapia farmacologica cronica della Tabella 4.

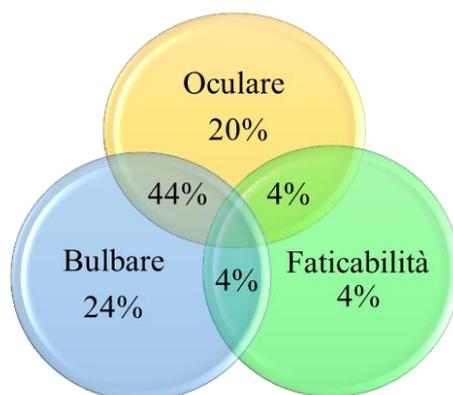


Grafico 7. Sintomi all'esordio

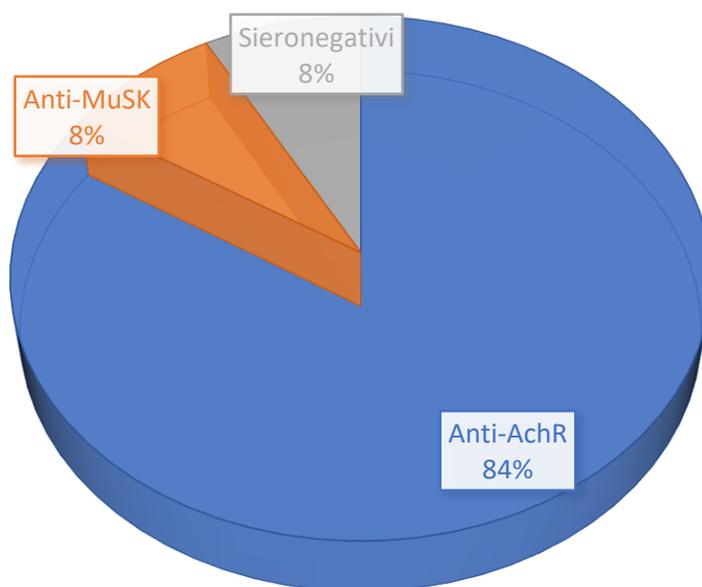


Grafico 8. Anticorpi

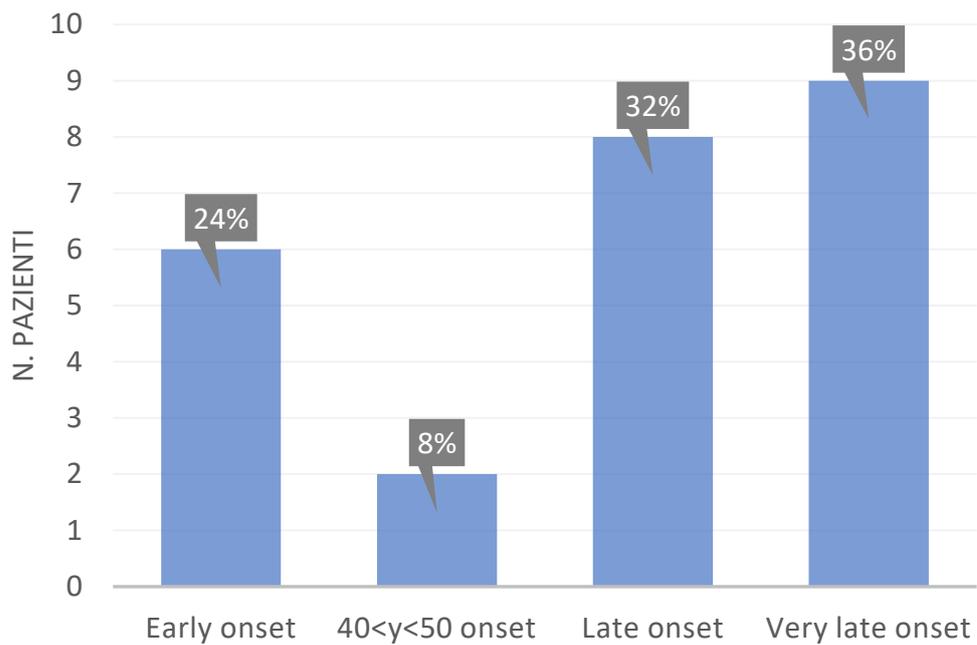


Grafico 9.
*Percentuale
 sul totale per
 età d'esordio*

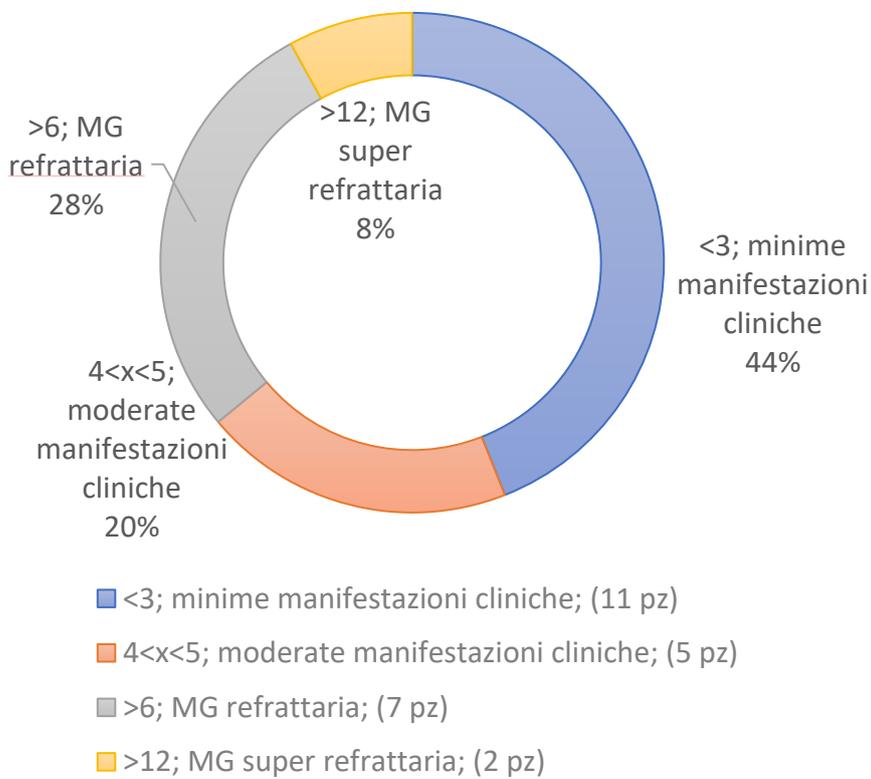


Grafico 10.
*Classificazione
 MG-ADL
 (Myasthenia
 Gravis Activities of
 Living)*

TABELLA 5. *Terapie farmacologiche croniche e rescue nei pazienti refrattari*

VARIABILE	VALORE OSSERVATO
Terapie farmacologiche croniche	
Mestinon – <i>numero (%)</i>	24 (96%)
Steroidi – <i>numero (%)</i>	21 (84%)
IVIg – <i>numero (%)</i>	15 (60%)
Azatioprina – <i>numero (%)</i>	21 (84%)
Micofenolato mofetile – <i>numero (%)</i>	4 (16%)
Methotrexate – <i>numero (%)</i>	0
Rituximab – <i>numero (%)</i>	3 (12%)
Ciclofosfamide – <i>numero (%)</i>	2 (8%)
Ciclosporina – <i>numero (%)</i>	4 (16%)
Eculizumab – <i>numero (%)</i>	3 (12%)
Efgartigimod – <i>numero (%)</i>	1 (4%)
Terapie farmacologiche rescue	
PEX – <i>numero (%)</i>	11 (44%)
IVIg – <i>numero (%)</i>	9 (36%)

Di seguito il grafico relativo alla terapia farmacologica cronica della Tabella 5.

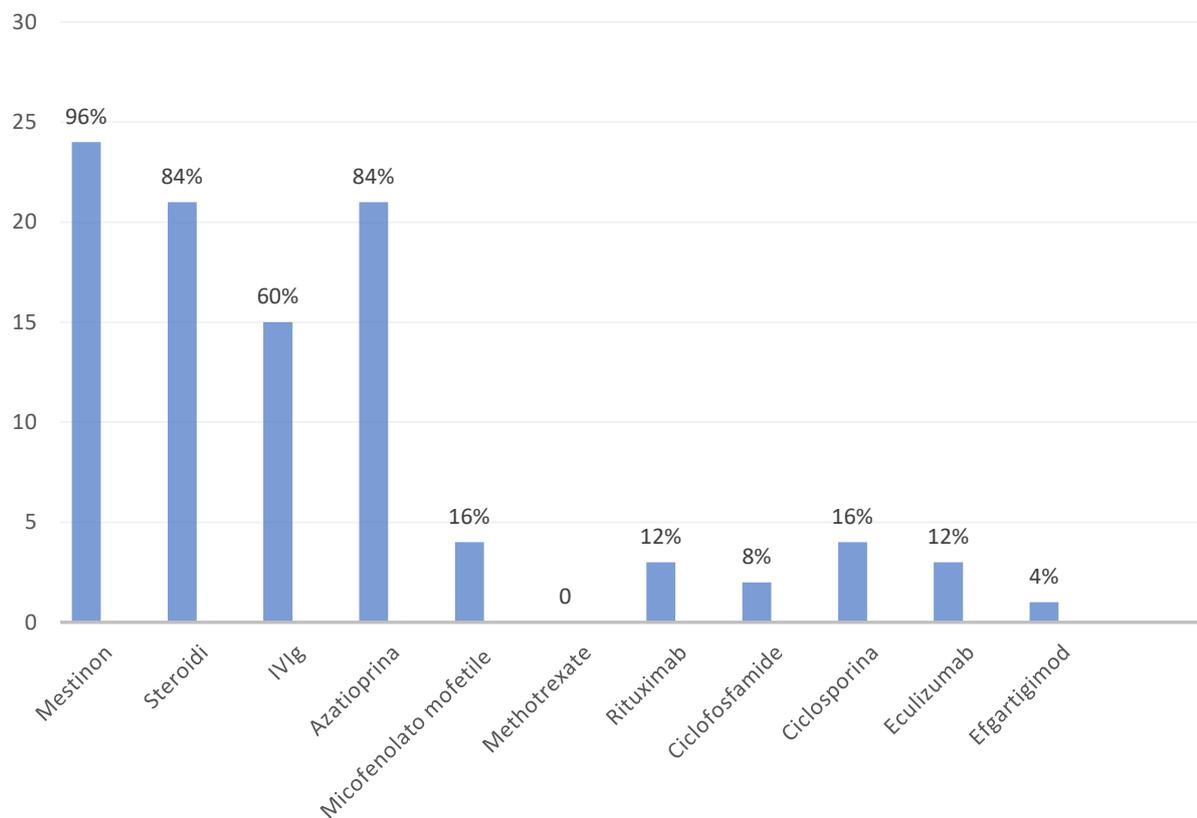


Grafico 11. *Terapia immunosoppressiva cronica nei pazienti MGFA IIIb+*

6. La nostra esperienza

Presso la Clinica Neurologica del Policlinico San Martino, dal 2020 ad oggi alcuni pazienti sono stati trattati con farmaci di nuova generazione.

Di seguito sono riportati i dati della nostra esperienza.

Eculizumab

Questo farmaco attivo contro il complemento è stato avviato in tre pazienti affetti da Miastenia Gravis generalizzata con positività ad anticorpi anti-AChR, refrattari a terapie immunosoppressive di prima linea.

- Il primo paziente (Paziente 1 in grafico) ha avviato Eculizumab all'età di 83 anni, dopo una storia tumultuosa di malattia con plurimi ricoveri per riacutizzazioni miasteniche con caduta del capo e necessità di immunoglobuline ev (oltre alla terapia di fondo con corticosteroidi ad alto dosaggio e AZA). Al momento dell'induzione, presentava un MG-ADL di 15; a fine induzione si riscontrava già un miglioramento della sintomatologia con MG-ADL di 12. Il valore della scala ha continuato a scendere in maniera lineare al follow-up a 3 mesi, mentre il paziente proseguiva le somministrazioni del farmaco ogni 14 giorni. Si tratta del paziente di cui conosciamo i dati più a lungo termine: a novembre 2022 presentava un MG-ADL di 3, equivalente a uno stato di malattia in ottimo compenso. Eculizumab ha inoltre permesso di scalare la terapia steroidea dal dosaggio di 1 mg/kg, che il paziente assumeva in cronico con importanti effetti avversi, fino al dosaggio di 10-5 mg a giorni alterni.

- La seconda paziente (Paziente 2 in grafico) ha avviato Eculizumab a marzo 2023 all'età di 58 anni, con un MG-ADL di 11 con importante coinvolgimento oculare; dopo il ciclo induttivo ha ottenuto un miglioramento dei sintomi con MG-ADL di 7, mantenuto al follow-up a tre mesi (MG-ADL 6). Ha inoltre ridotto la dose di steroide in cronico, sospeso il MTX e sta scalando l'AZA.

- La terza paziente (Paziente 3 in grafico) ha tentato terapia con Eculizumab per 3 mesi e mezzo, tra il 2021 e il 2022, all'età di 59 anni; si trattava di una paziente particolarmente fragile, con

plurimi ricoveri per rescue therapy, in trattamento con steroide a dosaggio sovramassimale che all'epoca ancora controindicava l'esecuzione di timentomia. Purtroppo questa paziente non ha risposto alla terapia con Eculizumab, con un MG-ADL di 7 che è rimasto pressoché immutato anche dopo tre mesi di terapia. Nel suo caso abbiamo riavviato i cicli mensili di IVIg riducendo molto lentamente lo steroide. Dopo circa sei mesi siamo riusciti a effettuare la timentomia e la paziente è gradualmente migliorata. Alla visita attuale presenta un MG-ADL di 4 e ha ridotto la terapia steroidea a 10mg/die.

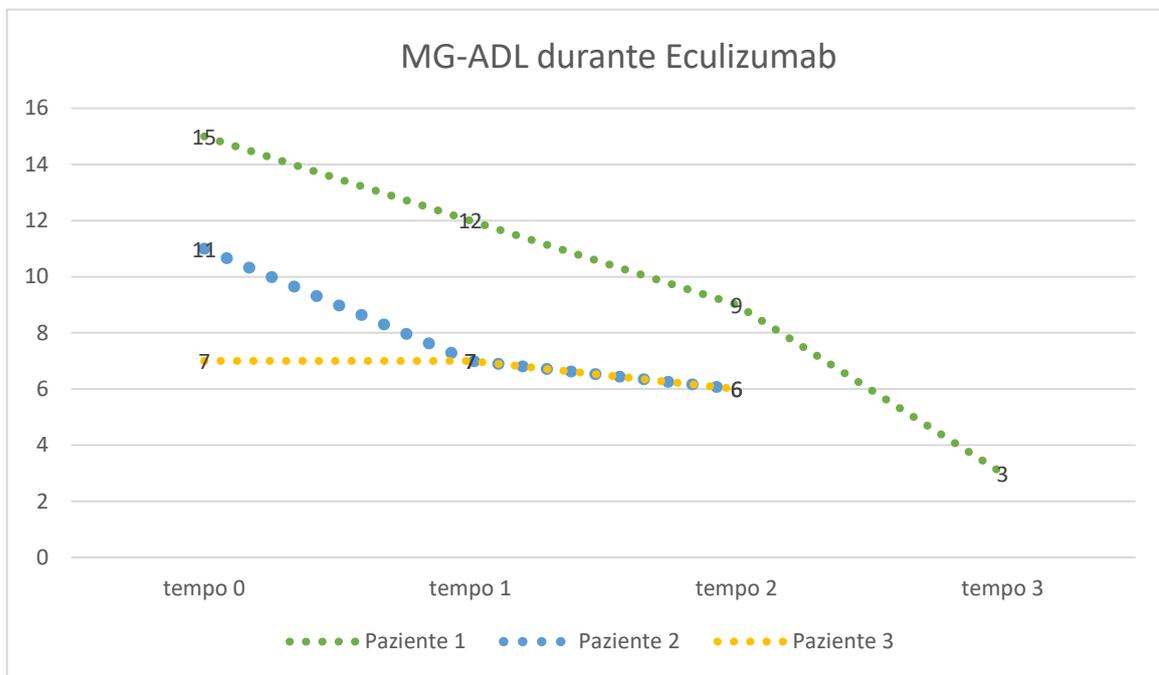


Grafico 8. Valori di MG-ADL durante Eculizumab

Efgartigimod

Una paziente con Miastenia Gravis generalizzata associata a positività per anticorpi anti-AChR è stata arruolata in uno studio sperimentale con Efgartigimod ev, somministrato con un ciclo induttivo di 1 volta a settimana per 4 settimane e poi 1 volta ogni 14 giorni.

Ad oggi la paziente è in cura con questo farmaco da 7 mesi.

Il suo MG-ADL è stato monitorato ad ogni infusione: al momento dell'arruolamento presentava una forma di malattia moderato-severa, con importante coinvolgimento oculare e bulbare e MG-ADL pari a 9; l'induzione ha prodotto un beneficio rapido e, dopo qualche fluttuazione nei primi due mesi, il punteggio si è stabilizzato su valori ≤ 3 .

Per motivi legati alla sperimentazione, la terapia di fondo con Deltacortene 25 mg non è stata modificabile per le prime 21 settimane di somministrazione di Efgartigimod; dalla 21esima settimana è stato intrapreso un lento tapering, attualmente in corso, senza finora peggioramento dei sintomi della MG.

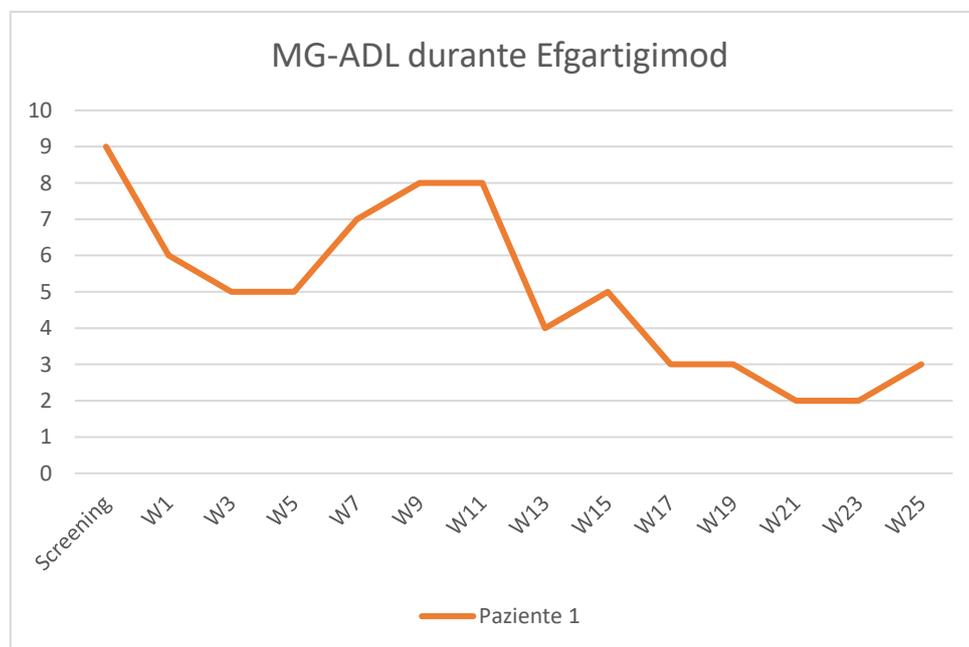


Grafico 9. Valori di MG-ADL durante Efgartigimod

Dai dati raccolti appare che sia l'approccio con inibitori del complemento sia quello con inibitori del recettore neonatale appaiono, nei casi responsivi, piuttosto rapidi nell'indurre una risposta clinicamente evidente. Sebbene la casistica sia numericamente limitata, in accordo con la letteratura, nei nostri pazienti queste terapie hanno consentito la riduzione dello steroide e degli immunosoppressori tradizionali senza un peggioramento della sintomatologia miastenica.

Andando a diminuire la quota di IgG totali senza eliminare le IgM, Efgartigimod si dimostra teoricamente sicuro nel non inibire la risposta immunitaria di prima linea contro le infezioni. Eculizumab prevede una scelta più ponderata dei candidati e la loro protezione contro le infezioni da batteri capsulati (mediante vaccinazione o profilassi antibiotica), condizione che lo rende meno adatto all'uso come rescue therapy nonostante la potenziale rapidità d'azione.

Entrambi i farmaci restano attualmente approvati per le forme di MG associate a sierotipo AChR+; le forme anti-MuSK, non attivando il complemento, non si giovano di principi attivi della classe di Eculizumab e, nella nostra esperienza, vengono trattati precocemente con Rituximab.

Efgartigimod, considerato da alcuni come la "plasmaferesi farmaceutica" di nuova generazione, potrebbe rivelarsi utile anche nelle forme da anti-MuSK e in quelle forme sieronegative che si suppone siano causate da autoanticorpi non ancora riscontrabili su siero.

7. Discussione

La nostra casistica, come già descritto, vede un'età media superiore a quella classica, che descrive classicamente il primo picco tra i 20 e i 30 anni e un emergente secondo picco tra i 60 e gli 80 anni (dati Osservatorio Malattie Rare). Tale situazione è stata riscontrata anche in altre realtà, che evidenziano la presenza di MG in soggetti con età superiore ai 50 anni (Punga, Evoli et al. 2022)²⁹.

La crescente incidenza della malattia in età avanzata, già descritta in altri centri italiani, unitamente all'aumento di prevalenza dovuto al miglioramento dell'aspettativa di vita, rappresenta una sfida multidisciplinare: il clinico si trova di fronte pazienti complessi, spesso con comorbidità multiple che peraltro non possono essere controllate con farmaci di uso comune. Esiste infatti una lunga lista di principi attivi che peggiorano la Miastenia Gravis (antibiotici, beta-bloccanti, calcio-antagonisti, antiepilettici, antiaritmici, antipertensivi, analgesici, psicofarmaci, lassativi, antiemetici, anticolinergici, anestetici).

Il profilo anticorpale più frequente è quello anti-AChR+, riscontrato nel 72% dei casi, dato che trova conferma nella letteratura. Al secondo posto e terzo si collocano i pazienti sieronegativi e i

pazienti di cui non abbiamo dati a riguardo, con una positività rispettivamente del 18% e dell'8%. Questa percentuale potrebbe non essere reale, in quanto non tutti i pazienti inseriti nel database hanno ricevuto la prima diagnosi presso il Policlinico San Martino, essendo talvolta giunti alla nostra attenzione come seconda visita o post-ricovero; di conseguenza, questi pazienti in futuro venendo ritestati per la positività anticorpale presso il nostro centro potrebbero modificare tali percentuali. Infine, all'ultimo posto abbiamo i pazienti anti-MuSK+ (2%).

Dal nostro studio è emerso che, per quanto riguarda le scelte terapeutiche circa le fasi acute di malattia, la timectomia, la scelta e l'ordine di somministrazione degli immunosoppressori tradizionali, è presente una standardizzazione delle cure e che i trattamenti intrapresi per i nostri pazienti oggetto di studio si sono dimostrati in linea con le linee guida EFNS/ENS.

I farmaci anticolinesterasici (Mestinon ®) devono essere somministrati per primi nel trattamento della MG. IVIg e PEX risultano essere efficaci nella gestione delle riacutizzazioni della malattia (livello di raccomandazione A), mentre PEX è raccomandato nei casi più gravi per indurre la remissione e in preparazione alla chirurgia (livello di raccomandazione B).

In caso di timoma, la timectomia è indicata indipendentemente dal livello di gravità della MG (livello di raccomandazione A).

In caso di necessità di farmaci immunosoppressori, gli steroidi orali rappresentano la prima scelta. Se necessaria un'immunosoppressione a lungo termine, si raccomanda l'utilizzo di AZA, per consentire di ridurre gradualmente gli steroidi alla dose più bassa possibile (livello di raccomandazione A)¹⁵.

In accordo con le linee guida, Micofenolato mofetile e Ciclosporina rappresentano i farmaci di seconda scelta in caso di pazienti intolleranti o non responsivi all'AZA (livello di raccomandazione B).

Indicazioni meno precise si hanno per gli altri immunosoppressori.

Methotrexate dovrebbe essere usato nei pazienti che non rispondono agli immunosoppressori tradizionali, anche se non vi è evidenza ad oggi confermata di efficacia per MG.

Tacrolimus nei pazienti con malattia scarsamente controllata (livello di raccomandazione C).

La Ciclofosfamide viene suggerita in caso di pazienti intolleranti o con un'insufficiente risposta a steroidi, AZA, MTX, MMT o ciclosporina.

Esistono infine episodi di miglioramento di MG refrattaria con Rituximab (evidenza di classe IV), rappresentando una strategia di trattamento promettente ma che necessita di ulteriori evidenze¹⁹.

Appare quindi evidente che, superate le prime linee di trattamento "classiche", non esiste più un consensus sulle ulteriori scelte terapeutiche da attuare.

Dal nostro studio emerge che la prima scelta terapeutica ricade, come da linee guida, sull'Azatioprina, tentata su 43 pazienti in totale (di cui 21 con MGFA \geq IIIb). La terapia è stata però sospesa in 18 casi, con un tasso del 41,9%; la sospensione si è resa necessaria per rialzo degli enzimi epatici (8 casi, 44,5%), mielotossicità (6 casi, 33,3%), episodi di iperpiressia o rash (4 casi, 22,2%).

La letteratura suggerisce che il tasso di tossicità epatica e mielosoppressione associate a terapia con AZA nella Miastenia è assai variabile; gli studi pubblicati non hanno formalmente analizzato il pattern, la severità e le tempistiche con cui si instaurano il danno e/o il recupero. Rispetto ad uno studio del 2018 da cui si evince una prevalenza overall di epatotossicità del 15,2% e di mielosoppressione del 9,1% (Jack et al., 2016)³⁰, i nostri dati evidenzerebbero un peggior profilo di tollerabilità del farmaco. È importante ricordare che l'utilizzo prolungato dell'AZA (dose cumulativa circa 600mg) si associa ad un aumento del rischio di tumori soprattutto cutanei (Sghirlanzoni et al., 2004)³¹. Nei nostri pazienti non abbiamo osservato un'incidenza elevata di neoplasie, ma con un drop-out così elevato, i nostri dati non sono sufficienti a trarre alcuna conclusione in merito.

Sempre in linea con le indicazioni EFNS/ENS, al secondo posto dopo l'AZA i farmaci più utilizzati nella nostra casistica sono il Micofenolato mofetile e la Ciclosporina.

Il primo è stato somministrato come seconda linea in pazienti che avevano dovuto sospendere l'AZA o non ne avevano tratto beneficio clinico, ed è stato interrotto nella metà dei casi (3 su 6).

La Ciclosporina è stata utilizzata in 6 pazienti in totale (e successivamente interrotta per intolleranza/inefficacia in 3 casi); in 2 casi era la seconda linea di terapia dopo l'AZA, nei restanti 4 si trattava della terza/quarta linea di terapia immunosoppressiva.

Esiste un ristretto pool di pazienti che ha dimostrato effetti collaterali in seguito a somministrazione di multipli farmaci immunosoppressivi, suggerendo probabilmente una predisposizione generica all'intolleranza, solitamente di tipo ematologica ed epatica; un'altra ipotesi è quella di un recupero incompleto a livello biochimico del danno provocato dal primo farmaco, su cui si innesta la potenziale tossicità del secondo farmaco iniziato troppo precocemente a causa di una Miastenia instabile che non permette intervalli di wash-out prolungati.

Rari sono invece i casi in cui l'interruzione di un farmaco è stata dettata da infezioni.

Inoltre, con i limiti della differenza numerica tra i due campioni in studio (pazienti MGFA I-II-III-IIIa e MGFA IIIb-IV-V), si nota come, a parità di terapie immunosoppressive croniche utilizzate, i pazienti refrattari facciano uso con maggior frequenza di tali farmaci, a testimonianza della loro maggior gravità di malattia.

Infine, più interessante è la differenza significativa di ricorso a terapie rescue con PEX e IVIg, molto maggiore nei pz MGFA IIIb+ (rispettivamente 44% e 40% per MGFA IIIb+, 16,5% e 16,5% per MGFA I/II/III/IIIa). Considerando che la maggior parte delle riacutizzazioni avviene nel primo anno di malattia (Godoy et al., 2013)³², questo dimostra non solo uno scarso compenso di malattia odierno in tali pazienti ma probabilmente anche un esordio più tumultuoso.

Non essendo attualmente presente una definizione universalmente accettata circa le forme di MG refrattarie ai trattamenti, nel nostro studio sono stati presi in considerazione come tali i pazienti con MGFAIIIb+.

Il 26% dei nostri pazienti non risponde in maniera adeguata alle comuni terapie, ricadendo nelle classi MGFA IIIb-IV-V con un MG-ADL medio di 5 e valori compresi tra 1 e 13, corrispondente rispetto al cut off di MG-ADL pari a 6 che è il comune criterio d'ingresso per i trials per Miastenia

Gravis. Tale percentuale di pazienti refrattari può essere spiegata in quanto al Policlinico San Martino, rappresentando un centro di terzo livello, affluiscono più frequentemente pazienti miastenici con sintomatologia clinica più importante.

L'assenza quindi di una standardizzazione farmacologica per le linee di trattamento più avanzate rappresenta un significativo *undmet need* non solo medico, ma anche sociale, causando una scarsa qualità di vita.

Nella nostra coorte il numero dei pazienti con malattia poco controllata è di 25, per alcuni di loro abbiamo avuto la possibilità di provare i nuovi farmaci biologici: Eculizumab ed Efgartigimod, in regime ordinario, o nel corso di sperimentazioni cliniche controllate.

I due farmaci hanno meccanismi d'azione differenti. Eculizumab è un farmaco in commercio già da anni, approvato dal 2017 per la MG anti-AChR+ refrattaria²¹. È diretto contro il frammento C5 del complemento impedendo la formazione del complesso MAC C5b-9. L'inibizione del complemento predispone a infezioni da parte di organismi capsulati, in particolare *Neisseria Meningitidis*. Motivo per cui è necessaria la vaccinazione o la terapia antibiotica prima dell'inizio della terapia.

Efgartigimod nasce per il trattamento della MG, è un frammento ingegnerizzato Fc di anticorpo IgG1 umano progettato per avere un'aumentata affinità per il recettore neonatale (FcRn), il quale svolge un ruolo nel riciclaggio delle IgG. Il farmaco, attraverso un meccanismo di competizione, si lega al FcRn, impedendo il processo di riciclo, determinando la degradazione e la riduzione dei livelli di immunoglobuline circolanti. Inoltre, eliminando le IgG e non le IgM la risposta immunitaria nei confronti di patogeni non viene compromessa²⁸.

In 4 dei nostri pazienti con MG refrattaria si sono ottenute buone risposte cliniche, grazie ai farmaci emergenti (Eculizumab, Efgartigimod), permettendo di evidenziare un miglioramento della sintomatologia clinica, nonostante il campione esiguo. Nei pazienti responsivi la risposta è stata rapida, a differenza di quanto osservato con i farmaci tradizionali.

Per quanto riguarda Efgartigimod si è ottenuta una prima riduzione dei valori di MG-ADL, passando da un valore di 9 a 6, già alla prima settimana di induzione, con qualche fluttuazione protrattasi fino all'undicesima settimana. Dopodiché il punteggio è progressivamente diminuito arrivando a un valore ≤ 3 dopo 7 mesi di trattamento. Il tapering della terapia steroidea, per motivi legati alla sperimentazione, non è stato intrapreso fino alla 21esima settimana, ma è attualmente in corso senza peggioramenti clinici.

Con Eculizumab si è avuta una riduzione dei valori di MG-ADL in due pazienti già al termine dell'induzione, in entrambi i casi con una riduzione di 3 punti, ottenendo rispettivamente un MG-ADL da 15 a 12 in un paziente e da 11 a 7 nel secondo paziente. Tale trend in decremento dei valori di MG-ADL è stato mantenuto anche nei mesi successivi. Ha inoltre permesso di scalare il dosaggio della terapia steroidea in entrambi i casi. La terza paziente invece, nonostante una terapia di circa 3 mesi, non ha risposto al farmaco, mantenendo un MG-ADL invariato con un valore pari a 7.

È interessante rilevare che una paziente trattata con Eculizumab non ha risposto. Nella popolazione asiatica è stata descritta una singola mutazione eterozigote C5, c.2654G→A, che predice il polimorfismo p.Arg885His, il quale determina la mancata risposta ad Eculizumab (Nishimura et al., 2014)³³. Ad oggi non vi sono studi genetici nella popolazione caucasica per capire se vi siano altri polimorfismi che riducano l'efficacia di Eculizumab in questa popolazione.

Infine, nuovi studi saranno sicuramente rivolti alle forme sieronegative, ad oggi orfane di farmaci a bersaglio molecolare. Alcuni di questi casi sono verosimilmente causati da Ab anti-recettore colinergico a bassa affinità, che non sono evidenziabili con le metodiche tradizionali, ma sono rilevabili con test cellulari che permettano l'adeguata conformazione dell'antigene (AChR clusterizzati sulle membrane cellulari). Un interessante spunto deriva dallo studio microscopico della giunzione per il rilevamento del complesso MAC (complesso di attacco alla membrana), la cui osservazione dimostrerebbe la presenza di un complemento attivato e aprirebbe la possibilità terapeutica con i farmaci anti C5 anche in queste forme.

8. Conclusioni

In conclusione, risulta evidente che la scelta della terapia farmacologica più adeguata debba essere il più possibile personalizzata, in base al contesto clinico e alle caratteristiche del paziente.

Si auspica quindi che, in futuro, con l'aumento della disponibilità di nuovi farmaci a bersaglio molecolare, diventi possibile modulare la terapia sulla base delle caratteristiche cliniche e del meccanismo patogenetico e, di conseguenza, ottenere un buon controllo sintomatologico della malattia e offrire una soluzione efficace anche a quei pazienti non responsivi o che presentano effetti collaterali gravosi alle terapie di prima linea.

9. Bibliografia

1. Cavalcante, P., Cufi, P., Mantegazza, R., Berrih-Aknin, S., Bernasconi, P., & Le Panse, R. (2013). Etiology of myasthenia gravis: innate immunity signature in pathological thymus. *Autoimmunity reviews*, *12*(9), 863–874.
2. Conti-Fine, B. M., Milani, M., & Kaminski, H. J. (2006). Myasthenia gravis: past, present, and future. *The Journal of clinical investigation*, *116*(11), 2843–2854.
3. Dresser, L., Wlodarski, R., Rezanian, K., & Soliven, B. (2021). Myasthenia Gravis: Epidemiology, Pathophysiology and Clinical Manifestations. *Journal of clinical medicine*, *10*(11), 2235.
4. Oliveira, R., Landeiro, L., & Lauterbach, M. (2020). Very late onset of myasthenia gravis: case report and brief review of the literature. *Acta neurologica Belgica*, *120*(4), 981–982.
5. Berrih-Aknin, S., Frenkian-Cuvelier, M., & Eymard, B. (2014). Diagnostic and clinical classification of autoimmune myasthenia gravis. *Journal of autoimmunity*, *48-49*, 143–148.
6. Gilhus, N. E., Tzartos, S., Evoli, A., Palace, J., Burns, T. M., & Verschuuren, J. J. G. M. (2019). Myasthenia gravis. *Nature reviews. Disease primers*, *5*(1), 30.
7. Cavalcante, P., Maggi, L., Colleoni, L., Caldara, R., Motta, T., Giardina, C., Antozzi, C., Berrih-Aknin, S., Bernasconi, P., & Mantegazza, R. (2011). Inflammation and epstein-barr virus infection are common features of myasthenia gravis thymus: possible roles in pathogenesis. *Autoimmune diseases*, *2011*, 213092.
8. Leite, M. I., Jones, M., Ströbel, P., Marx, A., Gold, R., Niks, E., Verschuuren, J. J., Berrih-Aknin, S., Scaravilli, F., Canelhas, A., Morgan, B. P., Vincent, A., & Willcox, N. (2007). Myasthenia gravis thymus: complement vulnerability of epithelial and myoid cells, complement attack on them, and correlations with autoantibody status. *The American journal of pathology*, *171*(3), 893–905.
9. Romi F. (2011). Thymoma in myasthenia gravis: from diagnosis to treatment. *Autoimmune diseases*, *2011*, 474512.

10. Estephan, E. P., Baima, J. P. S., & Zambon, A. A. (2022). Myasthenia gravis in clinical practice. *Arquivos de neuro-psiquiatria*, *80*(5 Suppl 1), 257–265.
11. Zheng, Y., Yuan, X., Zhang, C., Liu, R., Jin, H., Hao, H., Li, F., Zhao, Y., Yuan, Y., Wang, Z., & Gao, F. (2022). Efficacy and Safety of Tacrolimus Therapy for a Single Chinese Cohort With Very-Late-Onset Myasthenia Gravis. *Frontiers in neurology*, *13*, 843523.
12. Ciafaloni E. (2019). Myasthenia Gravis and Congenital Myasthenic Syndromes. *Continuum (Minneapolis, Minn.)*, *25*(6), 1767–1784.
13. Juel V. C. (2004). Myasthenia gravis: management of myasthenic crisis and perioperative care. *Seminars in neurology*, *24*(1), 75–81.
14. Muppidi, S., Silvestri, N. J., Tan, R., Riggs, K., Leighton, T., & Phillips, G. A. (2022). Utilization of MG-ADL in myasthenia gravis clinical research and care. *Muscle & nerve*, *65*(6), 630–639.
15. Barohn, R. J., McIntire, D., Herbelin, L., Wolfe, G. I., Nations, S., & Bryan, W. W. (1998). Reliability testing of the quantitative myasthenia gravis score. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *841*, 769–772.
16. Jiang, P., Li, J., Li, H. Y., Zhang, B., Yue, Y. X., Wang, S. Y., Zi, X. C., Liu, S. S., Li, Y. F., Jiao, L. D., & Li, H. F. (2022). Minimal Manifestation Status Indicates a Stable State in Myasthenia Gravis: A Quantitative Study. *Frontiers in neurology*, *13*, 880045.
17. Utsugisawa, K., Nagane, Y., Akaishi, T., Suzuki, Y., Imai, T., Tsuda, E., Minami, N., Uzawa, A., Kawaguchi, N., Masuda, M., Konno, S., Suzuki, H., Murai, H., & Aoki, M. (2017). Early fast-acting treatment strategy against generalized myasthenia gravis. *Muscle & nerve*, *55*(6), 794–801.
18. Li, Y., Yang, S., Dong, X., Li, Z., Peng, Y., Jin, W., Chen, D., Zhou, R., Jiang, F., Yan, C., & Yang, H. (2022). Factors affecting minimal manifestation status induction in myasthenia gravis. *Therapeutic advances in neurological disorders*, *15*, 17562864221080520.

19. Skeie, G. O., Apostolski, S., Evoli, A., Gilhus, N. E., Illa, I., Harms, L., Hilton-Jones, D., Melms, A., Verschuuren, J., Horge, H. W., & European Federation of Neurological Societies (2010). Guidelines for treatment of autoimmune neuromuscular transmission disorders. *European journal of neurology*, *17*(7), 893–902.
20. Di, L., Shen, F., Wen, X., Lu, Y., Zhu, W., Wang, M., & Da, Y. (2022). A Randomized Open-Labelled Trial of Methotrexate as a Steroid-Sparing Agent for Patients With Generalized Myasthenia Gravis. *Frontiers in immunology*, *13*, 839075.
21. Menon, D., & Bril, V. (2022). Pharmacotherapy of Generalized Myasthenia Gravis with Special Emphasis on Newer Biologicals. *Drugs*, *82*(8), 865–887.
22. Farmakidis, C., Pasnoor, M., Dimachkie, M. M., & Barohn, R. J. (2018). Treatment of Myasthenia Gravis. *Neurologic clinics*, *36*(2), 311–337.
23. Alcantara, M., Barnett, C., Katzberg, H., & Bril, V. (2022). An update on the use of immunoglobulins as treatment for myasthenia gravis. *Expert review of clinical immunology*, *18*(7), 703–715.
24. Narayanaswami, P., Sanders, D. B., Wolfe, G., Benatar, M., Cea, G., Evoli, A., Gilhus, N. E., Illa, I., Kuntz, N. L., Massey, J., Melms, A., Murai, H., Nicolle, M., Palace, J., Richman, D., & Verschuuren, J. (2021). International Consensus Guidance for Management of Myasthenia Gravis: 2020 Update. *Neurology*, *96*(3), 114–122.
25. Mantegazza, R., & Antozzi, C. (2018). When myasthenia gravis is deemed refractory: clinical signposts and treatment strategies. *Therapeutic advances in neurological disorders*, *11*, 1756285617749134.
26. Baggi, F., Andreetta, F., Maggi, L., Confalonieri, P., Morandi, L., Salerno, F., Bernasconi, P., Montomoli, C., Barberis, M., Mantegazza, R., & Antozzi, C. (2013). Complete stable remission and autoantibody specificity in myasthenia gravis. *Neurology*, *80*(2), 188–195.
27. Suh, J., Goldstein, J. M., & Nowak, R. J. (2013). Clinical characteristics of refractory myasthenia gravis patients. *The Yale journal of biology and medicine*, *86*(2), 255–260.

28. Howard, J. F., Jr, Bril, V., Vu, T., Karam, C., Peric, S., Margania, T., Murai, H., Bilinska, M., Shakarishvili, R., Smilowski, M., Guglietta, A., Ulrichs, P., Vangeneugden, T., Utsugisawa, K., Verschuuren, J., Mantegazza, R., & ADAPT Investigator Study Group (2021). Safety, efficacy, and tolerability of efgartigimod in patients with generalised myasthenia gravis (ADAPT): a multicentre, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial. *The Lancet. Neurology*, 20(7), 526–536.
29. Punga, A. R., Maddison, P., Heckmann, J. M., Guptill, J. T., & Evoli, A. (2022). Epidemiology, diagnostics, and biomarkers of autoimmune neuromuscular junction disorders. *The Lancet. Neurology*, 21(2), 176–188.
30. Jack, K. L., Koopman, W. J., Hulley, D., & Nicolle, M. W. (2016). A Review of Azathioprine-Associated Hepatotoxicity and Myelosuppression in Myasthenia Gravis. *Journal of clinical neuromuscular disease*, 18(1), 12–20.
31. Sghirlanzoni A., Lauria G., Nardocci N., Pareyson D. *Terapie delle malattie neurologiche*. Springer Milano. 2004
32. Godoy, D. A., Mello, L. J., Masotti, L., & Di Napoli, M. (2013). The myasthenic patient in crisis: an update of the management in Neurointensive Care Unit. *Arquivos de neuro-psiquiatria*, 71(9A), 627–639.
33. Nishimura, J., Yamamoto, M., Hayashi, S., Ohyashiki, K., Ando, K., Brodsky, A. L., Noji, H., Kitamura, K., Eto, T., Takahashi, T., Masuko, M., Matsumoto, T., Wano, Y., Shichishima, T., Shibayama, H., Hase, M., Li, L., Johnson, K., Lazarowski, A., Tamburini, P., ... Kanakura, Y. (2014). Genetic variants in C5 and poor response to eculizumab. *The New England journal of medicine*, 370(7), 632–639.

10. Ringraziamenti

In primo luogo ringrazio la mia relatrice, la Prof.ssa Marina Grandis, per avermi dato la possibilità di prendere parte a questo studio, per la disponibilità e il suo supporto.

Ringrazio la mia correlatrice, la dott.ssa Elena Scarsi, per il suo prezioso aiuto nell'attività di raccolta dei dati e per la sua disponibilità durante questo periodo di stesura della tesi.

Ringrazio la mia famiglia, per il supporto fornitomi in questi anni e per avermi aiutata a raggiungere questo obiettivo.

Ringrazio tutti i miei amici, per aver contribuito a rendere meno faticoso affrontare le difficoltà incontrate lungo questo percorso.

Infine ringrazio Samuele per essermi stato accanto in questi anni di studio.